



Naturalis

Repositorio Institucional
<http://naturalis.fcnym.unlp.edu.ar>

Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Naturales y Museo



Caracterización del perfil genético de la población actual de Azampay, Catamarca

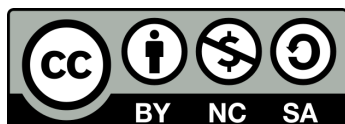
Ramallo, Virginia

Doctor en Ciencias Naturales

Dirección: Bailliet, Graciela
Co-dirección: Salceda, Susana

Facultad de Ciencias Naturales y Museo
2009

Acceso en:
<http://naturalis.fcnym.unlp.edu.ar/id/20120126000995>



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional



Naturalis

Repositorio Institucional
FCNyM - UNLP



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MUSEO

Caracterización del perfil genético de la población actual de Azampay, Catamarca

Virginia Ramallo

DIRECTORA: Doctora Graciela Bailliet

CO-DIRECTORA: Doctora Susana Salceda

TESIS
2009

A todos los pobladores de Azampay

A mi linaje, en el sentido más nuer del término

Agradecimientos

A las autoridades municipales de las ciudades de Belén y de la Puerta de San José.

A las autoridades de la Dirección de Antropología de Catamarca.

A la directora de la Escuela N° 460 de Azampay, doña Eva Yapura de Gallo y a todo el personal a su cargo, por su cariño y hospitalidad.

A las autoridades del Instituto Multidisciplinario de Biología Celular, por brindarme la posibilidad de desarrollar esta tesis.

A la doctora Graciela Bailliet, en forma totalmente sincera y absoluta. Por alguna extraña razón, supo confiar en mi capacidad, asumiendo las consecuencias de semejante acto. Acompañó cada paso de mi formación con paciencia soberana, creando generosamente un espacio de intercambio. Bajo su dirección aprendí, crecí y me divertí en igual medida y espero poder continuar haciéndolo en el futuro.

A la doctora Susana Salceda, por acercarme a este pueblo catamarqueño, por acompañar mis estudios de grado y postgrado, por aconsejarme en los vaivenes académicos. En más de una ocasión, su criterio, orientación y experiencia fueron muy importantes.

Al doctor Claudio Bravi, quien me habló de trabajar e investigar en Genética de Poblaciones cuando yo ni sospechaba tal posibilidad. Es el primer responsable de mi presencia en el IMBICE.

A mis compañeras de laboratorio Rita Santos, Josefina Motti y Marina Muzzio, por compartir, acompañar y apuntalar. Por los mates, las cenas y los viajes. A mis primeros compañeros, Silvina Richard y Walter Pavicic, por su bienvenida y feliz ayuda en el comienzo del proceso.

A todos mis vecinos del Instituto, a los que tengo la buena suerte de cruzar a diario y a aquellos que extraño, por esta curiosa reunión de voluntades que resultan en un ámbito de trabajo enriquecedor. Por los almuerzos, las charlas, las fiestas de fin de año, la contención y la presencia.

A Georgina Strasser, por los días compartidos en y fuera de Azampay.

A mis amigos del Servicio de Guías del Museo de La Plata.

A mis amigos cinéfilos.

A Emiliano.

Índice

Resumen	1
Abstract	2
Introducción	
Ácido desoxirribonucleico	3
Cromosoma Y	5
ADN mitocondrial	7
Metodología	8
La población en estudio	10
Materiales	
Azampay	18
Otras poblaciones	20
Métodos	
Marcadores moleculares	22
Cromosoma Y	22
ADN mitocondrial	35
Análisis estadístico	36
Genealogías	42
Resultados	43
Cromosoma Y	44
ADN mitocondrial	56
Genealogías	63
Conclusiones	84
Bibliografía	87
Anexos	96

- *Soy Cuol ¿Cómo te llamas tú?*
- Me llamo Pritchard.
- *¿Cómo se llama tu padre?*
- Mi padre se llama también Pritchard.
- *No, eso no puede ser cierto. No puedes llamarte igual que tu padre.*
- Así se llama mi linaje. ¿Cómo se llama tu linaje?
- *Somos los Lou.*

Entrevista en la tribu Lou. Campamento del río Nyanding, Sudán

“Los Nuer” E.E.Evans-Pritchard
Anagrama – Barcelona – 1977
Primera edición Clarendon Press – Oxford -1940

Resumen

Evans Pritchard llegó a Sudán a comienzos de 1930 para realizar un estudio entre los llamados “pueblos nilóticos”. La investigación fue financiada por el gobierno del entonces Sudán Angloegipcio y fue la base de su trabajo de postgrado. La entrevista citada es un ejemplo de dos maneras muy diferentes de entender y nominar las relaciones de parentesco. Por supuesto, las posibilidades no se agotan aquí.

El parentesco ha sido un tema extensamente abordado por la antropología, encontrándose en todas las sociedades del planeta múltiples maneras prácticas de clasificar la ascendencia y descendencia de cada persona. Además de los vínculos establecidos desde el nacimiento y de los adquiridos a lo largo de la vida, las relaciones de parentesco tienen un correlato biológico que permite definir linajes y reconstruir ancestrías a nivel poblacional.

La historia de nuestra nómada especie también está escrita en sus células, más concretamente, en el ADN contenido en su interior. Se han definido polimorfismos específicos de poblaciones o asociados a poblaciones y es posible construir linajes paternos o maternos de distribución geográfica o étnica determinada. En este trabajo de tesis se emplearon técnicas de análisis molecular para caracterizar el perfil genético de la comunidad que hoy habita en Azampay, Catamarca. El objetivo fue conocer el porcentaje y aporte diferencial de los componentes americanos y extra-americanos a esta población con mezcla génica, reconstruir su historia migracional en el contexto del movimiento colonizador de los valles en el Noroeste argentino y cotejar estos linajes moleculares con las genealogías construidas a partir de los registros oficiales y los relatos orales de los informantes.

Abstract

Evans Pritchard arrived to Sudán on the beginning of 1930, his objective was studied the “nilotic peoples”. His research was financed by the government of the Anglo-Egyptian Sudán and it was the subject of his PHD degree. The interview cited, was an example of two different ways to understand and nominate the family relationships.

The family relatedness has been extensively studied in Anthropology. In human societies around the world there are several ways to classify the ancestors and descendant of each person. Family relationships are constructed during the life of each individual, but also have biological basis that permit define lineages and reconstruct ancestral conditions in a population.

The history of our specie is also written in the DNA in our cells. Several polymorphic markers have been described to be specific for some populations, and they can also permit to reconstruct paternal or maternal lineages with a geographical or ethnical distribution. In this Thesis we have characterize the genetic composition of the community called Azampay, Catamarca. The objective was to identify the American and Non American component, to reconstruct the migration history in the North West valleys from Argentina. We correlate genealogies constructed by the official registers and personal communication of the participants of the study.

Introducción

Ácido Desoxirribonucleico

La función del ADN es almacenar información biológica. En 1868 Miescher comenzó los primeros estudios sistemáticos sobre la composición del núcleo celular y logró aislar una sustancia con fósforo a la que llamó “nucleína”. Suponía que este ácido nucleico estaba asociado de algún modo a los procesos de herencia celular. Setenta y seis años después se obtuvo la primera evidencia en ese sentido. Avery, MacLeod y McCarty, basados en los experimentos anteriores de Griffith con neumococos, deducen que la transformación de una cepa no virulenta a una virulenta estaba mediada por el transporte del mensaje genético contenido en el ADN. En 1953, Watson y Crick concluirían que la conformación estereoquímica más favorable para esta molécula es la de doble hélice complementaria, modelo compatible con la información obtenida mediante difracción de rayos X por Wilkins y Franklin (Watson, 2004). Desde entonces y a un ritmo inesperado, las investigaciones y desarrollos técnicos en todo el mundo han producido un cúmulo de información sorprendente sobre las moléculas en el interior de las células humanas. Estos resultados han abierto debates ético-sociales sobre el alcance e implementación de determinadas tecnologías y el carácter público y de libre acceso de los datos como parte del patrimonio de nuestra especie, además de la responsabilidad de su preservación.

El ADN es una biomolécula formada por unidades repetidas de nucleótidos con tres componentes característicos: una base nitrogenada, una pentosa y un fosfato. Las bases se clasifican según el compuesto original del que derivan: las púricas, adenina (A) y guanina (G) y las pirimídicas, citosina (C) y timina (T). Las partes de un nucleótido se mantienen unidas por enlaces covalentes y estos, a su vez, se ensamblan unos con otros. A estos polinucleótidos también se les llama “hebras”, cada molécula de ADN está compuesta por dos hebras conjugadas. Su estructura tridimensional está estabilizada por las interacciones hidrofóbicas y la formación de puentes de hidrógeno entre bases.

En términos precisos, se denomina genoma al conjunto total de ADN presente en una célula. Al tratarse de una macromolécula, su eficaz empaquetamiento en ese limitado espacio constituye todo un desafío estructural. Se clasifica en genoma nuclear complejo y genoma mitocondrial simple. El ADN con localización nuclear se asocia con un conjunto de proteínas

básicas denominadas histonas y estas estructuras más compactas son los nucleosomas. Junto con otras proteínas no histonas conforman la cromatina, fibras componentes de los cromosomas. El ADN en la mitocondria carece de proteínas asociadas y su disposición es circular. Entre ambos existe una diferencia notable de tamaño. El genoma nuclear humano comprende más de 6.000 millones de pares de bases, organizados en 22 cromosomas autonómicos y un par de cromosomas sexuales, designados XY. El genoma mitocondrial, en tanto, comprende sólo 16.569 pares de bases.

Es posible identificar regiones codificantes y no codificantes, según sean transcripcionalmente activas o no. Las primeras, al expresar un producto funcional, están sujetas a presiones selectivas por lo que su margen de variabilidad es acotado. El ADN no codificante puede cambiar modificando su composición o longitud. Si las variantes son heredadas, pueden llegar a tener una manifestación poblacional con frecuencias diferenciales, las que se conocen como polimorfismos. Las herramientas de análisis surgidas a partir de su estudio tienen grandes posibilidades, ya que el 98,5% de nuestro ADN no incluye secuencias de genes y el 70% no se transcribe (Jobling y col, 2004). En 1940, Ford utilizó el término *polimorfismo* para designar “la aparición conjunta en un lugar de dos o más formas discontinuas de una especie”. En la práctica, un locus es considerado polimórfico cuando la variante alélica más común tiene una frecuencia poblacional menor al 99% y al menos el 2% de la población debe ser heterocigota para ese locus (Cummings, 2000).

Desde que en 1901 se describieron los primeros marcadores para caracterizar poblaciones, en los trabajos con grupos sanguíneos de Landsteiner, la diversidad genética humana ha sido objeto de continuos análisis. Durante todo el siglo XX, el alcance de las investigaciones y su profundidad analítica y descriptiva fue en aumento. El 14 de abril de 2003 se anunció finalmente la culminación del Proyecto Genoma Humano, publicándose la primera secuencia de ADN completa, después de 13 años de desarrollo de uno de los mayores trabajos en conjunto por parte de un Consorcio Internacional (“*International Human Genome Sequencing Consortium*”, www.genome.gov) integrado por centros e investigadores de 20 países.

Hoy es posible estudiar la variabilidad por análisis directos del ADN, utilizando los llamados Marcadores Genéticos, caracteres de herencia simple que permiten medir la heterogeneidad. Conociendo la distribución de las variantes alélicas dentro y entre poblaciones pueden inferirse las estructuras poblacionales y construir filogenias globales confiables. Un árbol filogenético es una forma de graficar las relaciones jerárquicas y proponer vinculaciones ancestrales. Ilustra los efectos de la migración y la deriva, fuerzas que moldean la variabilidad poblacional (Underhill y Kivisild, 2007). Los métodos para su construcción se basan en modelos

teóricos sobre cómo operan esos procesos y en cálculos establecidos para las tasas mutacionales concretas. En suma, la real fortaleza de estas abstracciones es su continua puesta a prueba, la contrastación con nuevos datos que lleven a modificar o robustecer las relaciones de inclusión o exclusión de los linajes dentro del árbol. Tienen además una distribución geográfica particular, producto de procesos históricos y prácticas sociales específicas, lo que torna el empleo de filogenias poblacionales una herramienta especialmente útil en investigaciones médicas, forenses o antropológicas,

Cromosoma Y

Comprende aproximadamente 60×10^6 pares de bases, con dos regiones diferentes: una pseudo-autosómica en los extremos, que recombina con la porción homóloga del cromosoma X durante la meiosis y el resto del cromosoma, específicamente masculino, que no está involucrado en ningún fenómeno de recombinación y constituye el 90% de su longitud (Jobling y Tyler-Smith, 1995). Tal condición se conoce con el nombre de *hemiploidia*. Esta región NRY del genoma (del inglés “*Non-recombining region of the Y chromosome*”) reviste particular interés en los estudios de biología humana, dado que su variación es producto exclusivo de mutaciones y reflejo de procesos evolutivos ocurridos en linajes paternos. Su baja tasa de mutación minimiza los fenómenos de recurrencia o reversión, por lo que la presencia compartida de una variante definirá, con alta probabilidad, un grupo de linajes masculinos relacionados por descendencia. Los primeros marcadores se establecieron a partir de polimorfismos identificados en estudios forenses y de filiación. Investigaciones posteriores aplicaron estos marcadores y sumaron a su vez nuevos, estudiando el origen, evolución y migración de las poblaciones humanas. El término *haplotipo* se refiere a la combinación de los posibles estados alélicos de distintos marcadores polimórficos en una misma molécula de ADN (Jobling y col, 2004). Si se trabaja tipificando ADN mitocondrial o cromosoma Y, necesariamente se obtiene un haplotipo, ya que son en sí mismas expresiones haploides del genoma. Se denomina *haplogrupo* al conjunto de haplotipos para los que puede suponerse un origen común.

En el año 2002 se conformó el Consorcio Internacional del Cromosoma Y (YCC, del inglés “*Y Chromosomal Consortium*”), una comunidad de universidades, laboratorios e investigadores que estandarizaron las numerosas nomenclaturas con la construcción de un árbol filogenético de alta resolución y máxima parsimonia, relacionando 153 haplogrupos (YCC, 2002). Este sistema fue adoptado y perfeccionado en estudios posteriores, el más reciente en abril de

2008, elevando a 311 el número de haplogrupos establecidos, basados en un total de 600 marcadores (Karafet y col, 2008). El mapa global con la distribución actual de frecuencias es el resumen de los movimientos migratorios humanos. La acción de presiones evolutivas resulta en el establecimiento de diferencias a escala continental y sub-continental. Como ya se ha dicho, emplear marcadores moleculares para caracterizar una muestra, hace posible la deducción del origen geográfico del linaje de un individuo. Las filogenias establecidas permiten seguir la huella de la diferenciación de un haplogrupo e incluso inferir su polaridad (Underhill y Kivisild, 2007)

Los estudios sobre diversidad dentro de nuestro continente muestran un panorama particular. América fue uno de los espacios más tardíamente ocupados por el hombre, sus colonizadores habrían atravesado el actual Estrecho de Bering durante la emergencia del puente terrestre en la última glaciación. El haplogrupo Q1a3a, definido por el marcador M3 (Underhill y col, 1996. Bianchi y col, 1997) se ha establecido como nativo del continente. Esta mutación sólo está presente en el resto del mundo en el extremo noroeste de Siberia y podría indicar una migración más reciente en un sentido de regreso, contrario al que siguieron los primeros pobladores de América (Karafet y col, 1997). El haplogrupo ancestral se denomina Q y está definido por la mutación M242. En base a su distribución euroasiática y su posición en el árbol filogenético, se sostiene que su aparición ocurrió antes de la primera migración hacia América, constituyendo un haplogrupo fundador (Siestald, 2003). En las poblaciones aborígenes actuales, son característicos los linajes que poseen la variante derivada para el marcador M3, mientras que para M242 se observan diferentes frecuencias entre Norteamérica y Sudamérica, lo que podría indicar un proceso de ocupación con más de una migración desde Asia y con un impacto diferente entre el norte y el sur (Bortolini y col, 2003).

ADN Mitocondrial

El ADN mitocondrial humano fue el primer genoma secuenciado de forma completa, recibiendo el título de *secuencia de referencia* (CRS "*Cambridge Reference Sequence*", Anderson y col, 1981. CRSr, corregida por Andrews y col, 1999). Al igual que en el caso del cromosoma Y, presenta un patrón de herencia uniparental, pero por estricta vía materna y sin fenómenos de recombinación. Su genoma es circular y lineal, con 16.569 pares de bases y diferente estructura, por lo que las cadenas se denominan *pesada* y *liviana* según su coeficiente de sedimentación.

Desde sus orígenes como simbiote, el ADN mitocondrial ha perdido muchos de sus genes y, consecuentemente, de su autonomía. Los 37 genes que porta contienen información relacionada con algún paso del proceso de fosforilación oxidativa. Todos los demás, esenciales para su funcionamiento, como los que codifican las enzimas mitocondriales, ADN polimerasa, ARN polimerasa y muchas proteínas estructurales y de transporte, han sido transferidos al genoma nuclear. De la misma manera, se han insertado otros segmentos del ADN mitocondrial en tiempos evolutivos más recientes. Estas inserciones reciben el nombre de *numts* (del inglés “*Nuclear Inserts of Mitochondrial DNA*”) y son comunes a todos los mamíferos. Algunas determinan polimorfismos humanos exclusivos y resultan de interés en la construcción de árboles filogenéticos (Bravi y col, 2006).

En el genoma mitocondrial no hay intrones, sus transcritos son policistrónicos y posee un código genético diferente del nuclear. Si bien su pauta de replicación es mayor, también es más ineficaz. Posee una tasa de mutación que supera aproximadamente de 5 a 10 veces la nuclear, registrándose mayormente transiciones de base (De Benedictis, Passarino, 2005). Además, su medio es rico en mutágenos, especies reactivas de oxígeno, como consecuencia de su papel principal en la función respiratoria de la célula. Carece de proteínas histonas asociadas y su enzima polimerasa no posee actividad reparadora de errores. Esta elevada tasa mutacional se traduce en una gran diversidad del ADN mitocondrial en las poblaciones humanas y es una de las razones de su gran utilidad en los estudios evolutivos. Sin embargo, la tasa no es uniforme a todo lo largo de la molécula, es relativamente baja en las regiones codificantes y alta en la denominada Región Control, aproximadamente 8.6×10^{-5} por sitio por año (Stoneking y col, 1992). Contiene el origen de replicación de la cadena pesada y los promotores para la transcripción de ambas. Se extiende desde la posición 16024 hasta la 576. En algunas posiciones dentro de los llamados Segmentos Hipervariables de la Región Control, la tasa mutacional es tan elevada que pueden observarse cambios en una sola línea de descendencia (Howell y col, 2003).

La definición precisa de sus dominios está sujeta a cambios según los objetivos. En los estudios poblacionales suele extenderse el límite de la Región Hipervariable I para abarcar las posiciones 16390, 16391 y 16399, de importancia filogenética (Chinnery, 2006). En base a los polimorfismos identificados por secuenciación de la Región Control y por digestión con enzimas de restricción, es posible establecer relaciones entre diferentes linajes mitocondriales o entre grupos de linajes relacionados por un conjunto de mutaciones compartidas, reconstruir migraciones pasadas e incluso avanzar en el conocimiento sobre el origen y dispersión del género *Homo* desde África al resto del planeta.

En 1993 se definieron los cuatro haplogrupos mitocondriales basales en un árbol para poblaciones amerindias, designados alfabéticamente como A, B, C y D (Torroni y col, 1993). Esta nomenclatura se amplió en los estudios posteriores de las relaciones filogenéticas entre grupos de otros continentes, estableciéndose un orden jerárquico global para los haplogrupos y subhaplogrupos identificados. En América se conocen hoy cuatro haplogrupos de distribución pan-continental, designados como A2, B2, C1 y D1, además de un quinto haplogrupo, X2a, restringido a América del Norte (Achilli y col, 2008).

Metodología

Todo el trabajo de la presente tesis -y el de años de investigación que lo preceden- resulta inconcebible sin la técnica de PCR (del inglés "*Polymerase Chain Reaction*" – Reacción en Cadena de la Polimerasa). De hecho, es difícil imaginar las tareas en laboratorio en estudios genéticos y de biología molecular, antes del advenimiento de los termocicladores. Desarrollada entre 1985 y 1987 por el equipo de Saiki, Mullis y Faloona, permite obtener copias de una región de interés de ADN de manera rápida y eficaz, emulando in Vitro la replicación de la doble hélice. El procedimiento requiere una molécula que funcionará como molde y opera por cambios regulares de temperatura, en un medio acuoso estable. Se consigue así la desnaturalización, separando las dos cadenas para luego hibridar los cebadores, oligonucleótidos que flanquean la zona de interés, donde se espera identificar un polimorfismo. La síntesis es posible entonces gracias a la enzima ADN polimerasa, aislada de la bacteria termófila *Thermus aquaticus* (*Taq*), que cataliza la reacción a 72° centígrados y adiciona nucleótidos trifosfatados en forma complementaria a las bases del molde. Finalmente se obtienen dos copias de la secuencia blanco o amplicon y éstas se multiplican exponencialmente al cabo de treinta ciclos, que es el número promedio de repeticiones.

Todo el trabajo con moléculas se encuentra mediado por técnicas que permiten manipularlas e inferir sus estados. El ciclo de amplificación descrito arriba debe verificarse de modo indirecto, aprovechando la carga electronegativa del ADN, que colocado en un campo y sometido a una corriente eléctrica, migrará hacia el polo positivo. Estos campos o tramas sintéticas son geles de agarosa o acrilamida, con diferentes tamaños de poro según los fragmentos que se desean estudiar, ya que se movilizan a mayor o menor distancia en el campo en relación a su longitud. Para que sea posible visualizar los resultados de este proceso, las moléculas se asocian a sustancias con alguna propiedad para emitir una señal luminosa y

registrarla luego en imágenes. El resultado de esta secuencia de pasos es comprobar que el proceso de amplificación por ciclado se cumpliera correctamente, ya que para más datos sobre las muestras es preciso conocer detalles de la secuencia de ADN obtenida. Se emplea entonces una herramienta con miles de años de antigüedad: la batería bacteriana de endonucleasas de restricción, enzimas que identifican secuencias determinadas de nucleótidos y pueden romper la cadena en sitios determinados. Son parte de la estrategia de las bacterias para protección contra ataques virales, tienen una alta sensibilidad, pueden reconocer un cambio en una sola base y se denominan por siglas en relación a la especie de la que fueron purificadas.

Como se mencionara anteriormente, estudiando la presencia y distribución de polimorfismo se puede analizar la diversidad biológica humana, incluso eventos pasados de nuestra especie, ya que cada individuo integra con su familia un linaje, comparte ascendentes y una historia común. A su vez, en un plano inmediatamente superior, los individuos integran una población y su genoma en conjunto es producto de la acción de diferentes fuerzas evolutivas actuando en distintos momentos. Se denominan procesos microevolutivos, generadores de diversidad, que pueden ser estimados midiendo los cambios en las frecuencias alélicas dentro de las poblaciones en las que se producen. Para ello, es necesario producir modelos matemáticos que se aproximen a la realidad observada y permitan comparar sub-poblaciones e inferir procesos pasados, como colonización, migración y diferentes modos de adaptación humana al medio. Se han desarrollado una serie de software a los fines de estos estudios, en este trabajo se utilizaron ARLEQUIN 3.11 (Excoffier, Laval, Schneider 2005), NETWORK 4.5.0 (Fluxus Technology 1999-2008), NTSYSpc 2.11 (Applied Biostatistics Inc, 2000-2003) y PASSaGE 2 (Rosenberg, 1998-2009)

La Población en Estudio

La superficie de Catamarca se caracteriza por formaciones montañosas que llegan a superar los 3800 metros y también comprende alturas menores como las sierras de Belén, Hualfín y La Alumbra. Azampay es una pequeña localidad a 1800 metros sobre el nivel del mar, situada al noroeste del valle de Hualfín y pertenece al departamento de Belén. Este, ubicado al oeste de la provincia, contaba con 20.926 habitantes según datos del Censo Nacional del año 2001. El río Belén es su principal recurso hídrico. La provincia se diferencia en cuatro regiones con características propias: de la Puna, del Centro, del Este y del Oeste, el departamento de Belén está comprendido en esta última. Su relieve y geología pertenecen a grupos estructurales y geográficos de la Zona de Transición Cordillerana catamarqueña, de Las

Sierras Pampeanas y del Sistema Narváez-Cerro Negro-Famatina. Si bien la región está afectada por el denominado Clima Templado, la altura y la aridez imponen condiciones particulares. El relieve es un factor decisivo que provoca un efecto de barrera, de modo que los valles se convierten en compartimentos separados con microclimas propios. Las diferencias altitudinales determinan un gradiente térmico y de precipitaciones, decreciendo desde los valles y faldeos hasta las culminaciones montañosas, limitando las posibilidades de explotación económica y el asentamiento humano. Las sierras de Hualfín y de El Jarillal son la continuación de La Sierra de Las Cuevas, al oeste de la cual se encuentran los cerros Negro y Durazno; hacia el Sur las sierras de La Alumbra-Ovejería, y las Sierras de Belén que continúan hasta Shincal. El valle de Hualfín está definido por el río del mismo nombre, en su cuenca confluyen numerosos afluentes menores, entre ellos, el propio río Azampay. Es un sistema de quebradas menores que se abren al pie del Cordón de La Falda y convergen al valle central. Está dividido en tres jurisdicciones municipales y cuatro distritos catastrales: Hualfín, San Fernando, La Puerta de San José y La Ciénaga, al cual pertenece la localidad de Azampay. Las comunicaciones en la región no son sencillas, la Ruta Provincial número 40 es la principal vía de transporte, hacia las alturas se abren caminos consolidados, que no siempre son mantenidos en condiciones. Azampay está conectada a la Ruta 40 por un acceso de tierra medianamente transitable y sin señalización, siendo difícil llegar sin una guía. Otros parajes situados a mayores alturas, como El Tolar (3800 msnm), sólo son accesibles viajando a lomo de burro. Esta región del departamento es conocida como "Norte Chico", que integra a las localidades de Puerta de San José, Condor Huasi, Las Barrancas, Las Juntas y Pozo de Piedra.

En términos generales, toda la geografía provincial es imponente. El relieve es volcánico, los paisajes amplios y el clima extremo. Desde hace siglos, las poblaciones ocupan los nacientes y fondos de valles, con distribuciones desiguales a lo largo del territorio catamarqueño. La provincia cuenta, como parte de su patrimonio cultural, con un importante registro arqueológico. En el caso particular de la localidad de Azampay, los hallazgos más antiguos se asocian al Periodo Formativo (Temprano y Medio, González, 1955), con fechados de 2400 AP (Sempé y col, 2000). Son estructuras a ras de suelo que evidencian ocupaciones humanas como fondos de viviendas y también andenes de cultivo, paredes en pircas como cercados y enterratorios en diferentes contextos de adultos y sub-adultos correspondientes a la llamada Cultura Condorhuasi, caracterizada por un modo de vida agroalfarero. Este establecimiento en el valle no sería un fenómeno aislado, sino contemporáneo a la colonización de una variedad de ambientes en el NOA por parte de pequeños grupos campesinos. Si bien el registro presenta

lapsos sin ocupación en la estratigrafía de Azampay, la presencia de sociedades humanas habría sido persistente a lo largo de los siglos, llegando a diferenciarse un Periodo de Desarrollos Regionales hacia el 1100-1480 de nuestra era. Los hallazgos arqueológicos corresponden a la llamada Cultura Belén, con expansión en Catamarca en los departamentos de Belén y Tinogasta. Su organización sociopolítica pudo ser de Señorío o Cacicazgo y su territorio nuclear fue el Valle de Hualfín, desde donde se expandió a los valles cercanos y al ambiente más elevado de la Puna. En este contexto, Azampay habría funcionado como área de producción agrícola a gran escala durante la época precolombina. Las evidencias materiales presentan un panorama de gran movilidad, con una importante densidad demográfica al momento del contacto hispano-indígena.

Fue un conjunto de intereses y casualidades los que terminaron por delimitar la región de la Quebrada de Azampay como objetivo de investigación antropológica. Dado su emplazamiento estratégico, tuvo inicialmente una motivación arqueológica. Los primeros registros datan de los diarios de campo de W. Weisser, ingeniero austriaco contratado por Benjamín Muñiz Barreto para realizar excavaciones en el Valle de Santa María, Catamarca. En 1925 hace un viaje de reconocimiento y describe un pequeño asentamiento agro pastoril en la actual localidad de Azampay. Estas mismas familias y sus descendientes alojarían a los primeros investigadores de la Universidad Nacional de La Plata que viajarían en forma sistemática desde 1980. Se conformó un grupo de trabajo multidisciplinario dirigido por la doctora Sempé y co-dirigido por las doctoras Salceda y Maffia, integrado por profesionales y alumnos de las tres áreas de especialización de la carrera de Antropología que dicta la Facultad de Ciencias Naturales y Museo: arqueología, antropología sociocultural y bioantropología, además de abogados, médicos, juristas e historiadores, con financiación de organismos como CONICET y la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica. Los viajes a la localidad fueron una instancia de experiencia y aprendizaje, donde hacer efectivas las propuestas teórico metodológicas de las diferentes cátedras. Además del registro arqueológico ya mencionado, la baja densidad demográfica de Azampay permitía fácilmente estudios sobre población total, evitando todo sesgo de muestreo. El eje central del trabajo fue la permanencia y el cambio en aspectos tales como el uso del espacio habitacional, los patrones de asentamiento y su relación con la organización familiar, los tipos de migraciones (Maffia, Zubrzycki, 2001), la composición étnica de la población (Salceda, Méndez, Tobisch, 1998), la recurrencia de patologías (Caramagna, Salceda y col, 1999), las estrategias económicas, la subsistencia y la dieta (Onaha, Salceda, Méndez y col, 1999), entre otros. En Azampay se encuentra la única escuela, almacén,

cementerio y posta sanitaria de la zona, con personal de enfermería permanente y un profesional médico que realiza rondas en forma mensual. Incluye tres caseríos situados a pocos kilómetros: Chistín, La Agüita y El Carrizal, todos pertenecen al distrito La Ciénaga, en el que se diferencian dos campos comuneros: Azampay y Huasayaco, en el que se ubica Chistín. A medida que las sucesivas generaciones se asentaron, el número de viviendas fue en incremento, de modo que el ritmo y las tareas cotidianas involucran a todo el área, siendo el polo principal la escuela. Allí los alumnos completan el ciclo básico (desde primero hasta noveno año), desarrollan tareas en doble escolaridad y asisten al comedor. Los niños son la parcialidad de población más numerosa de la localidad.

En el contexto de montaña, la disposición espacial de Azampay es altamente visible. Las ocupaciones humanas siempre son evidentes por la presencia de árboles, en general especies introducidas, como nogales, álamos o coníferas y pocas autóctonas, como el algarrobo. La vegetación natural es dispersa, de cardones y pastos duros, ya que el agua es realmente un recurso limitante, como se mencionará en más de una ocasión. El poblado es un grupo de casas pequeñas unidas por una serie de caminos de huella, del tamaño adecuado para permitir la circulación de vehículos. Están señalizados por piedras pintadas a la cal, además de una red de senderos peatonales que establecen distancias más cortas. Las construcciones más importantes son la iglesia y la escuela, mientras que las viviendas familiares se componen de pequeñas habitaciones de adobe o bloques, con planta rectangular y distribuidas alrededor de un patio. La cocina y el baño están separados, generalmente se utiliza para preparar alimentos un fogón a leña y muy pocos tienen cocinas a gas envasado. Si bien existe red eléctrica para alumbrado público y domiciliario, las instalaciones particulares son precarias, montadas después de muchos años en casas que no contaban con este servicio al momento de ser construidas y resultan escasas en la mayoría de los casos. Pocas familias cuentan con heladera u otros electrodomésticos.

El espacio alrededor de cada vivienda suele estar cercado con alambre o vegetación para impedir el acceso de los animales, cuenta con una galería abierta, árboles o alguna estructura vegetal a modo de cobertizo o enramada a fin de proporcionar sombra a la zona de trabajo y permanencia exterior. La mayoría de las actividades cotidianas se desarrollan fuera de la casa, ya sean labores, juegos o la interacción con visitantes y familiares. Los terrenos destinados a sembradíos se denominan localmente “rastros”, están alambrados o cerrados con pircas y en algunos casos se trata de andenes de cultivo prehispánicos reutilizados. Pueden

ubicarse próximos a las viviendas o más apartados, al igual que los corrales de los animales. Se cultivan hortalizas, maíz, algunos frutales y la producción es destinada íntegramente al consumo familiar, ya que no rinde al punto de generar un excedente. Los elementos que se comercializan son pocos: nueces, pimientos, dulces de frutas, uvas y sus sub-productos, como el arrope o las pasas. El ganado es hoy caprino y en menor medida ovino, pero décadas atrás también se mantenían llamas y hay pocos casos de cría de cerdos o gallinas.

La estrategia económica de estos pobladores es la denominada pluriactividad o multiocupación: la realización de otras tareas además de la producción agropastoril a escala doméstica, incluyendo aquellas pagadas en especies o por contraprestación de trabajos. Hoy, la mayoría de las familias cuentan con un ingreso otorgado por el Estado provincial o nacional, ya sea un cargo, un contrato temporario, una pensión o algún plan asistencial. Este es su principal y, en ocasiones, único recurso. La presencia estatal también es evidente en el desarrollo de otros proyectos, como la creación de un hogar de día y comedor para niños en edad pre-escolar, existen programas de construcción de instalaciones sanitarias para madres con más de seis hijos y un micro-emprendimiento cooperativo en un pequeño criadero avícola. Todas estas obras tienen una vida intermitente, sufren los vaivenes presupuestarios globales y las fluctuaciones políticas de cambios de gestión. Otro recurso muy importante en Azampay y toda la provincia es el trabajo de hilado y tejido al telar, desarrollado mayormente por las mujeres. Incluye desde la compra de los vellones de lana –el precio del kilo varía según esté lavada o no, lo que aumenta las posibilidades de adulterarlo con material vegetal o piedras- hasta su hilado a mano con huso y tortero, la tinción artesanal con pigmentos naturales y el tejido en telar de tipo horizontal sin lanzadera, montado sobre horquetas en el patio de la vivienda.

Todas las prácticas enumeradas desembocan en la reproducción y mantenimiento de la familia de cada poblador en edad de integrarse a alguna actividad económica. Para describirlas es necesario destacar que *familia* es un término relativo que incluye tanto relaciones de filiación, como de fraternidad y alianza. Claro que éstas no son excluyente, ni siquiera necesarias. La familia no es una estructura rígida que responda a parámetros formales de obligaciones y derechos adquiridos por nacimiento, sino más bien un ámbito plástico en función de diversos tipos de relaciones e intereses, mayormente afectivos, pero también económicos o de prestigio. Para el caso particular de Azampay, Maffia y colaboradores (2004) siguiendo los postulados teóricos de Augé, utilizan el término *grupo doméstico*, como “aquella unidad de residencia, producción y consumo que puede componerse por personas entre las que no exista ningún lazo

de parentesco o, por el contrario, reunir varias unidades familiares”. Resulta útil en este caso, ya que en Azampay la familia es de tipo extensa, “efecto de la extensión en el tiempo y por intermedio de los lazos de casamiento, de las relaciones entre padres e hijos” (Maffia, *op.cit*) y coincide siempre con el grupo doméstico. Ahora bien, puede estar integrada tanto por una pareja más sus hijos solteros y casados, sus respectivos cónyuges y todos sus nietos como por todas las combinaciones posibles entre los integrantes de este grupo de descendencia. El término *pariente*, es aquí de uso lo suficientemente laxo como para incluir también a las familias políticas aún cuando el lazo ya no existe realmente -personas que enviudaron y volvieron a formar pareja, pero continúan recibiendo el título y trato por parte de la familia del cónyuge fallecido- y a los vínculos de compadrazgo. Es frecuente encontrar grupos domésticos formados por una mujer soltera, sus hijos y nietos. Todos los hermanos son criados en el mismo ámbito, pueden no compartir el apellido y más allá de saber que el vínculo sólo es por vía materna, no se establecen mayores restricciones en la denominación de la fraternidad ni se ignora el origen o la identidad de sus padres biológicos.

La tasa global de fecundidad, entendida como promedio de hijos por mujer al término de su vida fértil, es en Azampay de 5,3 hijos y representa un valor importante en comparación con los promedios provinciales de Catamarca para el decenio 1991-2001 (3,2) solo superado en todo el país por Misiones (3,4) (INDEC, 2001). Las mujeres pueden tener descendencia a edades tempranas, incluso cuando su propia madre aún tiene niños, con lo que los términos *tío* y *sobrino* son aplicados a personas de la misma generación. Si la mujer forma unión posteriormente, puede establecerse en una nueva residencia, en general en proximidad a la parental de alguno de los cónyuges, con sus primeros hijos y los que nazcan del nuevo vínculo. Los niños también pueden permanecer en la casa de sus abuelos maternos, quedando al cuidado de éstos. Igualmente en el caso que los padres deban emigrar por motivos laborales o que lo hayan hecho antes de su nacimiento, pero deciden enviar al hijo/a a cumplir la escolaridad en Azampay. Con los años, los niños suelen emplear los términos *mami* y *papi* para designar a los abuelos, aunque sepan que no lo son y llamar a los padres biológicos por el nombre de pila. Siempre uno de los descendientes permanece para acompañar a los ancianos en la vejez, puede ser tanto un hijo o hija soltera con su prole o alguno de los nietos y serán quienes hereden la vivienda familiar.

La costumbre de establecer la nueva residencia de cada unión en proximidad a la de algún progenitor está en relación a muchos factores, pero el principal es la particular propiedad de la tierra en Azampay y el acceso al agua, el recurso más limitante en la región. Se hizo

mención anteriormente a la categoría de campo comunero, se trata de territorios indivisos sin precisión de límites ni mensuras y derivarían de las antiguas mercedes de tierra otorgadas por la Corona Española (Zubrzycki, 2008). La última se registra en 1806, pero la práctica de dar tierras como compensación continuó durante el periodo independentista y de las autonomías provinciales, la última merced en Catamarca se otorgó en 1840, que pasarán a llamarse campos comuneros. En 1860, en distintos registros notariales se hace mención a la *estancia Asampay* o *campo comunero Asampay*, en propiedad de herederos que no habitaban en el lugar, pero venden en 1909 derechos de usufructo de la tierra y el agua a antiguos puesteros que se establecen en forma definitiva en la zona, formando lo que se denominará en esta tesis núcleo fundador. Una situación similar se da en la ocupación del caserío Chistín, en el campo *Huasayaco* o *Guasayacu*.

El Código Civil Argentino, que reúne las bases del ordenamiento jurídico en Derecho privado, es efectivo desde 1871, posterior a los primeros asientos notariales que definían la existencia, extensión y situación propietaria de estos campos. En las décadas siguientes, las diferentes provincias intentan sistematizar los registros catastrales y regularizar los títulos de tierras, pero esto no modificó la condición de campo comunero que afecta a estos terrenos. Existe un padrón donde constan los derechos de usufructo y sus beneficiarios, pero resulta impreciso y confuso, en general hace referencia a personas ya fallecidas. Ninguno de los herederos ha comenzado sucesiones o mensuras, con lo que la propiedad sigue siendo incierta, sostenida en la continuidad del hábito. El acceso a las tierras está mediado por relaciones de parentesco, los hijos heredan de sus padres el beneficio de uso. Las viviendas se consideran de propiedad particular, también los corrales y terrenos cercados, mientras que el resto es llamado *monte*, de acceso y explotación común para alimentar los animales o conseguir leña (Zubrzycki, *op cit*).

Dadas las condiciones climáticas, el medio permite sostener una actividad ganadera con acceso a una aguada natural, mientras que los cultivos sólo pueden mantenerse bajo riego. Azampay obtiene agua del río del mismo nombre, que tiene ciclos estacionales y presenta mayor caudal durante el verano. El agua es conducida por un sistema de acequias y distribuida hacia los terrenos ubicados a ambos márgenes o *bandas* del río. El municipio inició en 1998 obras para proveer de agua a los domicilios a través de una red de cañerías subterráneas, colectando el recurso sin potabilizar en una cisterna hacia la naciente del río. A pesar de ello, los pobladores llaman *agua potable* a la que obtienen de las canillas y *agua corriente* a la que circula

por las acequias. La reglamentación del riego se basa en la propiedad de determinada cantidad de horas o turnos de agua, correspondiéndole a cada familia un número variable por herencia. Estos turnos están asentados en los registros notariales, con el mismo detalle que los derechos de uso de tierras y en ocasiones pueden cederse o venderse. El sistema de distribución es de común acuerdo entre los usuarios, todos los vecinos saben cuantas horas de uso corresponde a cada uno. La posesión de este recurso limita la cantidad de terrenos que pueden emplearse para sembrar, habitar, distribuir entre los herederos o vender. En la actualidad, la posibilidad de seguir subdividiendo el agua es impensable (Zubrzycki, 2003).

Al hablar sobre el trabajo a lo largo de estas décadas en Azampay, es necesario destacar que, más allá del apoyo y los permisos otorgados por las autoridades provinciales competentes (Dirección de Antropología de Catamarca, Ministerio de Educación Provincial, Municipalidad de La Puerta de San José), habría sido absolutamente imposible desarrollar el proyecto de no contar con la franca disposición de sus habitantes. La comunidad aprobó la continuidad de las actividades por una diversidad de causas. Considerando la situación de aislamiento geográfico por el difícil acceso, más aún en los primeros años del proyecto, la presencia del equipo significaba tanto la ocasión de interactuar con regularidad con actores ajenos al contexto como la posibilidad de desarrollar pequeñas actividades económicas (venta de alimentos y prendas tejidas, trabajos remunerados en la zona de excavación) y de contar con vínculos sociales no formales con los que tender lazos fuera de la comunidad. Además, en el caso particular de algunas familias con las que el trato llegó a ser personal y coloquial, respondía a los deberes de comportamiento por el principio de hospitalidad, valor al que se le otorga mucha importancia. Surgieron así relaciones de compadrazgo, apadrinando a los niños que cumplían con los ritos católicos de bautismo o comunión.

Durante el periodo 2001-2005, con el título “Estudio antropológico integral del valle de Hualfín, Catamarca”, el trabajo en Azampay fue uno de los Proyectos de Incentivos de la Universidad Nacional de La Plata. Entre sus objetivos constaba reconstruir el proceso de ocupación precolombina del Valle de Hualfín y abordar la continuidad/discontinuidad biológica y sociocultural a través del análisis comparativo. En este marco se insertó el presente trabajo de tesis y entre los años 2004-2005 se realizaron los viajes de muestreo a la localidad.

Objetivos

El propósito de esta investigación fue caracterizar el perfil genético de la población actualmente residente en la localidad de Azampay, utilizando para ello marcadores moleculares de herencia uniparental.

Objetivo general

- Contribuir al conocimiento de la historia poblacional de Azampay, en el contexto particular de la ocupación del Valle de Hualfín y la región Noroeste de nuestro país.

Objetivos específicos:

- Analizando polimorfismos del ADN mitocondrial y de cromosoma Y específicos de poblaciones o asociados a poblaciones, es posible identificar linajes maternos o paternos de distribución geográfica o étnica determinada. En una población con mezcla génica como Azampay, definirlos permitiría conocer el porcentaje y aporte diferencial de sus componentes americanos y no americanos.
- En nuestro país, los apellidos se heredan mayoritariamente por línea paterna y la posesión del mismo determina los derechos de herencia sobre los bienes familiares. En el caso de la localidad de Azampay éstos incluyen la propiedad de la tierra y del agua. En forma semejante, aunque sólo de padres a hijos varones, se hereda la región específica no recombinante del cromosoma Y. Se busca establecer cuántos y cuales linajes paternos están presentes y así constatar su concordancia o discordancia con las genealogías construidas a partir de los registros oficiales y de los relatos orales de los informantes.
- Entre las múltiples estrategias económicas posibles, en el Noroeste argentino ha sido registrada especialmente la migración masculina. La comparación de linajes moleculares y sus distintas frecuencias entre localidades de la región, proporcionaría datos sobre la variabilidad intra e interpoblacional y las posibles rutas migratorias.

Materiales

Azampay

En el curso de los años 2004 y 2005 se realizaron un total de cuatro viajes a la localidad, los dos primeros en el contexto de trabajo multidisciplinario de las cátedras y los dos siguientes ajustados sólo a los objetivos de esta tesis. En todos se contó con el imprescindible apoyo de los directivos y personal de la Escuela Provincial Nº 420, quienes prestaron las instalaciones del edificio para alojamiento durante las dos semanas promedio que se permaneció en la comunidad, en cada viaje. Entre el múltiple material con que se cuenta como antecedente a esta investigación, producto de la década de trabajo en la zona por parte de otros profesionales del equipo, existe un registro genealógico completo de todas las familias residentes (Maffia, Zubrzycki 2001), así como un censo de sus viviendas (Zubrzycki, comunicación personal) que fue basal para decidir la estrategia de abordaje por entrevistas.

Las muestras se colectaron con una técnica menos intrusiva que la extracción sanguínea: el hisopado de mucosa bucal y la salivación directa. Por ambos medios se consiguen células de descamación del epitelio de las mucosas, que luego se mantienen en solución estabilizadora hasta la extracción de ADN en el laboratorio. Para esta tarea se contó con el apoyo de agentes locales, como maestros, que funcionaron como articuladores y con la autorización explícita de los donantes.

El procedimiento consistía en contactar a cada persona en una entrevista particular, donde se explicitaban los objetivos y alcances de la investigación a desarrollar y se entregaba una síntesis escrita de la misma. En caso de manifestar voluntad de donar, se completaba y firmaba un formulario de consentimiento informado (ver ANEXO – TEXTO 1). En el caso de menores de edad, se trabajó con la autorización de sus padres o tutores. Este protocolo de trabajo cuenta con el aval del Comité de Bioética del IMBICE. Además de la toma de muestra, se completaba una encuesta genealógica y se consignaban detalles del origen de la familia. Dado que el objetivo era aquí conocer las características genéticas uniparentales de la población actual de Azampay, el censo se limitó a consignar sólo aquellas personas que al momento de ser entrevistadas habitasen de manera efectiva en la localidad. Se obtuvieron así un total de 126 muestras, 67 mujeres y 59 varones, que representan el universo completo a analizar, sin sesgos de muestreo.



Localización geográfica
de las poblaciones analizadas
en este trabajo.

En la colección de las primeras muestras se empleó el método de hisopado bucal, conservándose en tubos de polipropileno con solución salina y se mantuvieron refrigeradas a 4º

C durante la estadía en Azampay. El ADN fue extraído luego mediante el método fenol-cloroformo con precipitación etanólica.

Dados los resultados de baja concentración de ADN final, este protocolo fue modificado en los siguientes dos viajes, reemplazándose el hisopado bucal por la salivación directa en tubos Falcon de 50 mililitros y la solución salina por solución alcohólica metanol-etanol al 50%. Con este sistema, las muestras no necesitan ser refrigeradas. La extracción de ADN se realizó mediante un preparado comercial para obtención de material genómico a partir de tejidos (Nucleo Spin Tissue, Macherey-Nagel). Los resultados en cantidad y calidad de eluciones finales fueron significativamente mejores. Para la identificación de las muestras en el Laboratorio de Genética Molecular Poblacional se estableció un código alfanumérico, el apellido de cada familia fue reemplazado por una letra y a cada integrante se le asignó un número (ver RESULTADOS – GRÁFICO 1).

Otras Poblaciones

Para realizar análisis comparativos de frecuencias, se emplearon muestras que ya estaban incluidas en el Banco de ADN del Laboratorio de Genética Molecular Poblacional. Todas fueron obtenidas en articulación con servicios hospitalarios de cuatro provincias de la Región Noroeste: Tucumán, Salta, Jujuy y Catamarca. Las muestras fueron tomadas en carácter anónimo, conociéndose sólo el sexo y procedencia de cada una.

La extracción de ADN se realizó en todos los casos a partir de sangre, empleándose el método fenol-cloroformo ya mencionado y con buenos resultados en cuanto a la concentración final de material. La variable principal es aquí el tejido desde el cual se trabaja, un volumen de sangre contiene muchísimas más células nucleadas que lo que puede obtenerse raspando la mucosa bucal.

El total disponible de muestras varió entre cada localidad y entre cada sistema de herencia analizado. En algunas ocasiones, las comparaciones fueron posibles tanto a nivel de haplogrupo como de haplotipo, mientras que en otras lo fue solo a nivel de haplogrupo. Algunos datos sobre estas poblaciones han sido publicados con anterioridad (Bailliet y col, 2005; Ramallo y col, 2005; Muzzio y col, 2006; Tamm y col, 2007; Bailliet y col, 2007) y otros resultan inéditos. Se realizará la aclaración pertinente cuando se presenten en detalle.

Cromosoma Y

Catamarca	112
Salta	84
Tucumán	17
Jujuy	77
TOTAL	290

ADN mitocondrial

Catamarca	99
Salta	69
Tucumán	72
Jujuy	40
TOTAL	280

Métodos

Marcadores Moleculares

CROMOSOMA Y

Se emplearon un total de 17 marcadores moleculares:

- MARCADORES DE EVOLUCIÓN LENTA O UEP (DEL INGLÉS “*UNIQUE EVENT POLYMORPHISM*”)

Producidos por sucesos únicos en la historia evolutiva, permiten establecer relaciones entre las personas que los comparten. Estos polimorfismos sólo tienen dos formas alélicas, una ancestral, compartida por los linajes más antiguos y otra derivada. Se utilizaron 10 marcadores escogidos de la bibliografía, a fin de obtener el máximo de información dentro de la población de interés. Según el tipo de cambio involucrado, pueden clasificarse:

a) Inserciones o deleciones de fragmentos de ADN: YAP (Hammer, 1994)

b) Cambios de una sola base o SNP (del inglés “*Single Nucleotide Polymorphism*”):

M89, P27 (Karafet y col.1999) M9 (Underhill y col, 1997), M207, M173 (Underhill y col. 2001) M242 (Seielstad y col. 2003) M3 (Underhill y col. 1996), M194, M199 (Underhill y col. 2001).

Cuando una base púrica reemplaza a otra púrica (A por G) o una pirimídica reemplaza a otra (C por T), el cambio se denomina transición. En caso contrario, es una transversión. Para los SNPs, la menor tasa de mutación calculada es de 2×10^{-8} por base por generación. En una escala de tiempo evolutiva humana, un cambio dado en una determinada posición es improbable que sea recurrente o revertido. En la práctica, la baja tasa mutacional permite suponer que los SNPs poseen identidad como descendientes de un estado ancestral común.

Las amplificaciones de ADN se llevaron a cabo en reacciones de $10 \mu\text{L}$, constando de 3 U de Taq ADN polimerasa Platinum (Invitrogen), $0,25 \mu\text{M}$ de cada cebador, $200 \mu\text{M}$ de desoxinucleótidos trifosfato (dNTP), $1,5 \text{ mM}$ de Cloruro de Magnesio, buffer estabilizante 10X (Invitrogen), agua desionizada y 10-30 nanogramos de ADN molde. Para las incubaciones se utilizaron tubos de tapón integrado con capacidad de 0,5 mililitros o 0,2 mililitros dependiendo del termociclador a emplear, contando en el laboratorio con un modelo PTC-100 (MJ Research) y

un Perkin Elmer. Todos los programas empleados mantienen un protocolo estándar de ciclado, comprendiendo un primer paso común de desnaturalización a 94° centígrados de temperatura seguido por tres pasos que varían según el marcador y se repiten entre 35 a 40 veces.

a- Desnaturalización a 94° C, durante 60 segundos

b- Hibridación o “*annealing*”, la temperatura varió entre 51° C y 61° C y el tiempo entre 40 y 60 segundos, dependiendo de la pareja de cebadores

c- Elongación, a 72° C durante 60 segundos

Cumplidos los ciclos de amplificación, una última fase común de 72° C durante cinco minutos finaliza la elongación.

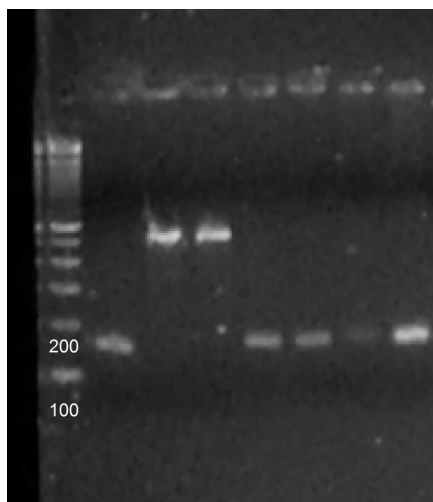
Para corroborar los resultados del proceso, los productos de amplificación se sometieron a electroforesis directa en geles de agarosa. Las matrices se obtienen disolviendo 2 gramos de agarosa en 100 mililitros de TBE (Tris-Borato-EDTA) con Bromuro de Etidio, agente intercalante utilizado como marcador de ácidos nucleicos. La solución se calienta durante dos minutos en microondas a fin de obtener una mezcla homogénea y luego se deja descender la temperatura hasta 60 ° C. Se vierte entonces en un molde de acrílico de 11 por 14 centímetros donde previamente se colocaron dos peines de 20 dientes, a fin de obtener 40 “*slots*” o ranuras de siembra. La polimerización se completa en 30 minutos. Los geles se sumergen en cubas con TBE con Bromuro de Etidio. Se depositan en cada ranura 4 microlitros de producto de amplificación por muestra, a los que previamente se añade 1 microlito de solución de carga (25% de azul de bromofenol, 25% de xileno-cianol, 40% de sacarosa y agua estéril hasta 50 mililitros), la electroforesis se cumple a un voltaje constante de 90 V. Se empleó en todos los casos un marcador en escalera o “*ladder*” de 100 pares de bases. Los resultados se fotografiaron con una cámara Kodak DSC120, iluminando los geles con un transiluminador UV y procesando las imágenes con el software Kodak Digital Science 1D versión 2.0.3.

El diseño del par de primers o cebadores para el marcador YAP resulta en fragmentos de distinto tamaño según se presente o no el inserto (ver *Marcadores empleados*), por lo que la electroforesis en agarosa es una técnica suficiente para detectar polimorfismos. En cambio, para las variantes de los loci SNP es necesario realizar digestiones con endonucleasas de restricción a fin de determinar polimorfismos por diferencias en las longitudes de los fragmentos originados o RFLP (del inglés “*Restriction Fragment Length Polymorphism*”). Estas reacciones se llevaron a cabo en volúmenes de 10 μ l, conteniendo entre 2 o 3 μ l de producto de amplificación, el buffer adecuado para cada enzima, suero bovino, agua desionizada y entre 1 a 5 U de enzima de restricción (New England Biolabs). Nuevamente se emplearon tubos con tapón integrado, que se sumergen en un baño termostático a 37 ° C durante toda una noche.

Para la verificación del proceso de digestión se utilizaron geles de poliacrilamida nativa (38:2, acrilamida:N,N'-metilen-bisacrilamida) con concentraciones entre 6% y 10%, dependiendo del tamaño del fragmento a visualizar. Para la polimerización, se prensan espaciadores entre vidrios, se vierten 20 mililitros de la solución (3 o 5 mililitros de acrilamida, con 15 μ l de TEMED (N,N,N',N'-tetrametilnediamina) y 30 μ l de persulfato de amonio como iniciadores, más agua desionizada hasta completar) se coloca un peine de 24 dientes y se obtiene así una malla de 16 X 14 centímetros. Cada muestra, previamente a ser sembrada, se desnaturaliza a 65 ° C durante cinco minutos. Luego se coloca en hielo y se mantienen así refrigeradas hasta mezclar un volumen de 5 μ l con 1 μ l de solución de carga y depositarla en el gel. La electroforesis se realiza en cubas verticales con TBE al 1X como buffer y el voltaje oscila entre 180 y 230 V, en relación a la concentración de acrilamida. El tiempo final varía también, entre 2 a 3 horas. Cumplido ese plazo, los geles se tiñen en solución de nitrato de plata al 1,6% y se revelan con solución de hidróxido de sodio 3% más formaldehído 0,5%. Los marcadores empleados se describen según el orden jerárquico que tienen en el árbol filogenético:

Locus YAP

Del inglés, “Y *Alu* Polymorphism”, este locus debe su polimorfismo a la presencia (YAP+, variante derivada) o ausencia (YAP-, variante ancestral) de un elemento *Alu*. Se determinaron mediante una amplificación sencilla de ADN y separación de los productos resultantes en electroforesis de agarosa, tal como se describió anteriormente. Las reacciones se llevaron a cabo en volúmenes de 10 μ l siguiendo un programa de 35 ciclos a 94° C durante 30 segundos, 51° C durante un minuto y 72° C durante 30 segundos.



Gel de agarosa 2%

Los cebadores empleados fueron:

YAP forward 5'-CAGGGGAAGATAAAGAAATA -3'

YAP reverse 5'-ACTGCTAAAAGGGGATGGAT -3'

Las muestras que tienen el alelo ancestral originan fragmentos de amplificación de 150 pares de bases, mientras que éste aumenta hasta las 450 pares de bases en las que poseen el alelo derivado.

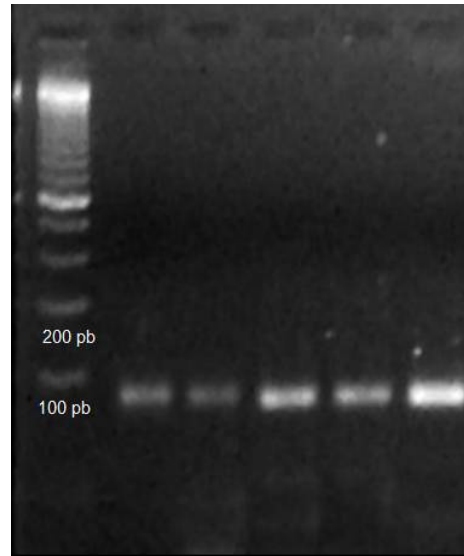
Locus M89

Este polimorfismo es producido por una transición de bases C-T, que se detecta por digestión directa con la endonucleasa de restricción Nla III

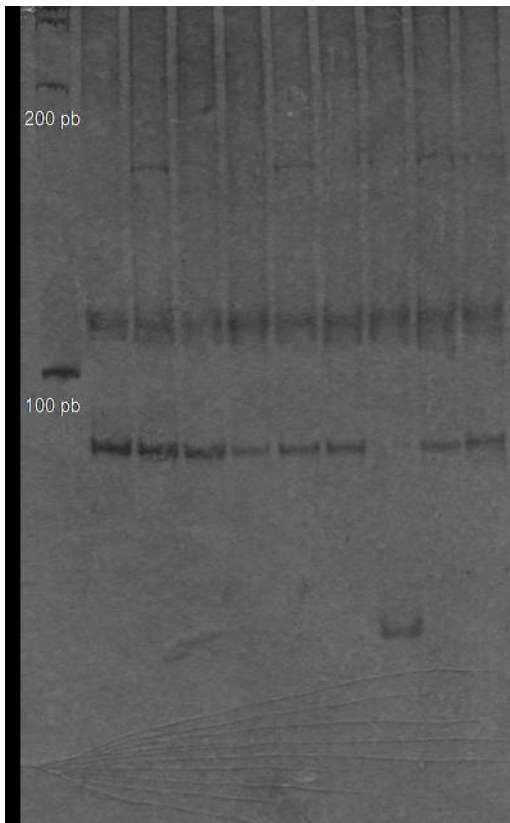
M89 forward 5'-ACAGAAGGATGCTGCTCAGCTT-3'

M89 reverse 5'-GCAACTCAGGCAAAGTGAGACAT-3'

El programa de amplificación consta de 35 ciclos y la temperatura de hibridación es de 56°. Se obtiene un producto de 89 pares de bases.



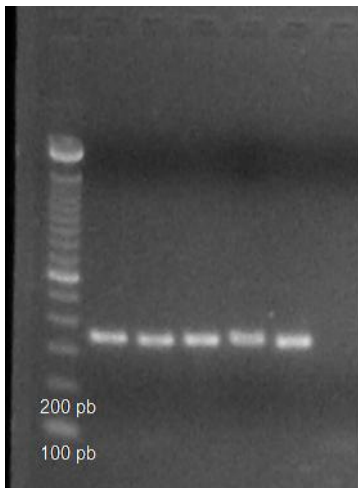
Gel de agarosa 2%



Gel de acrilamida 10%

Cuando la muestra posee en el amplicon una citosina (estado ancestral) en el sitio blanco, la digestión ocasiona un patrón de fragmentos característico de 67 y 20 pares de bases. Cuando es reemplazada por una timina (variante derivada) en la misma posición, la diana para la digestión enzimática ya no existe y la banda no sufre modificaciones de tamaño.

Locus M9



Gel de agarosa 2%

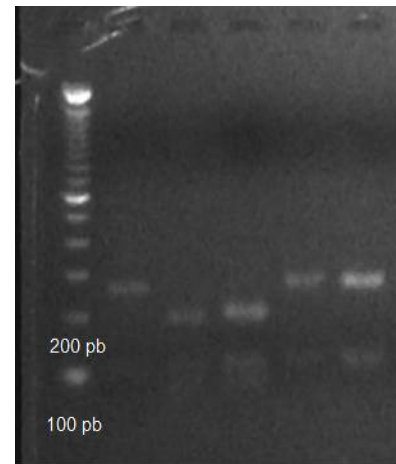
En este locus, los dos alelos se distinguen por una transversión de bases C - G. El programa de amplificación consta de 35 ciclos y la hibridación requiere 53° durante un minuto.

M9 forward 5'-GCAGCATATAAACTTTCAGG-3'

M9 reverse 5'-AAAACCTAACTTTGCTCAAGC-3'

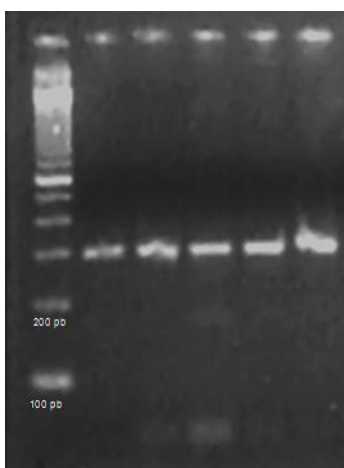
Se obtiene un producto de 340 pares de bases.

Se emplea la enzima Hinf I para la digestión, dando dos patrones de corte diferentes. El estado ancestral se distingue por tres bandas de 181, 95 y 64 pares de bases. La condición derivada, en cambio, presenta dos fragmentos de 245 y 95 pares de bases. Dado el tamaño de los fragmentos, la visualización del proceso de digestión puede realizarse en geles de agarosa



Gel de agarosa 2%

Locus P27



Gel de agarosa 2%

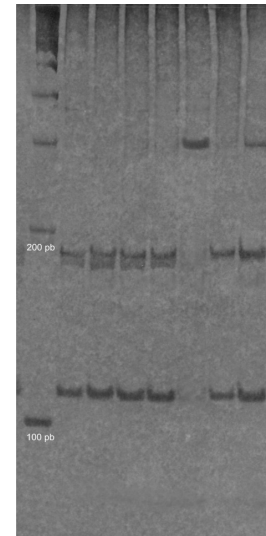
El programa de amplificación cumple 30 ciclos, con hibridación a 61° durante 40 segundos.

P27 forward 5'-CAACTGTCTGGGAGGCAAT-3'

P27 reverse 5'-TGATACACTCCTCCTTTAGTGG-3'

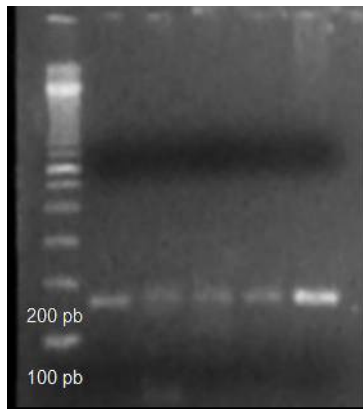
Como producto de reacción se obtiene un fragmento de 288 pares de bases, con una diana de reconocimiento para la endonucleasa Ban I.

Si la muestra contiene el estado ancestral, la digestión genera dos fragmentos de 182 y 106 pares de bases. La diana desaparece con el cambio de base en el estado derivado, permaneciendo el fragmento de igual tamaño.



Gel acrilamida 6%

Locus M207



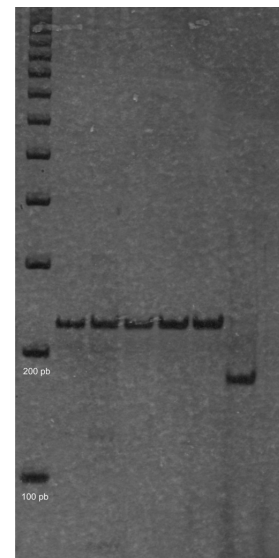
Gel de agarosa 2%

Este polimorfismo se caracteriza por una transición, cambiando una adenina por una guanina. El programa de amplificación consta de 40 ciclos, la hibridación se da a 54^o y produce un fragmento de 164 pares de bases.

M207 forward 5'- GGGGCAAATGTAAGTCAAGC- 3'

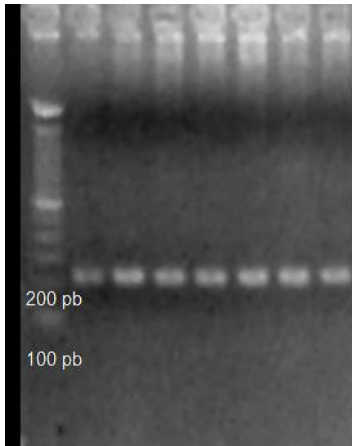
M207 reverse 5'- TTTCTAGGCTGTTCGCTGCT- 3'

En la digestión se utiliza la enzima Dra I, que produce dos fragmentos de 130 y 34 pares de bases en el estado ancestral. Si la muestra presenta el estado derivado, la digestión no ocasiona ningún cambio.



Gel acrilamida 6%

Locus M173



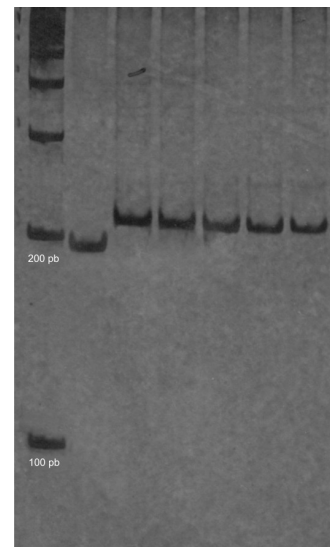
Gel agarosa 2%

En este polimorfismo se da una transversión A-C. El programa de amplificación consta de 35 ciclos y la hibridación requiere 56° durante un minuto.

M173 forward 5'-AAGAAATGTTGAACTGAAAGTTGAT -3'

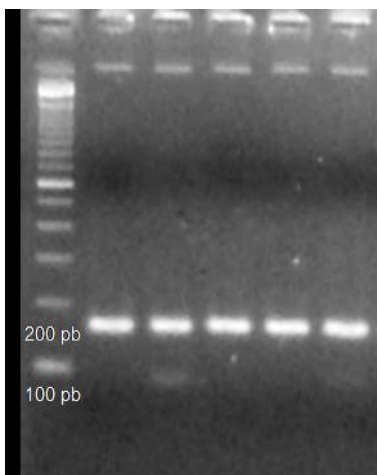
M173reverse 5'-TTCTGAATATTAACAGATCACAAAG -3'

El resultado es un fragmento de 216 pares de bases, con una diana de restricción para la enzima Dra III. Si está presente el alelo ancestral (base A), se obtienen dos fragmentos de 195 y 27 pares de bases, mientras que en la condición derivada (base C) la enzima no efectuará ningún corte



Gel acrilamida 6%

Locus M242



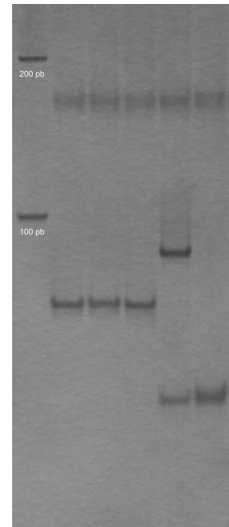
Gel agarosa 2%

En este caso, se trata de un polimorfismo definido por una transición de base C – T. La amplificación se cumple en 40 ciclos, con una hibridación a 54° durante un minuto.

M242 forward 5'- TCAGATGGCAAGATTTTAAAGTACA -3'

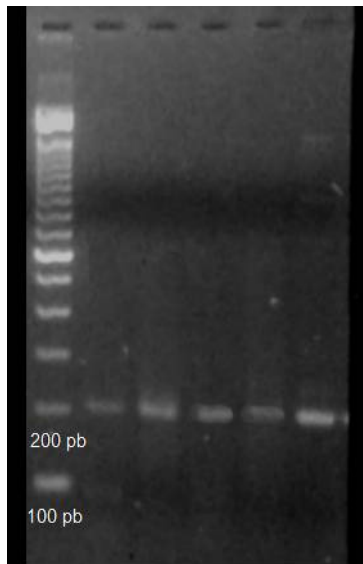
M242reverse 5'- AAAAACACGTTAAGACCAATGTC -3'

Se obtiene un amplicon de 151 pares de bases, que se digiere con la enzima Hpy 188 III. En caso de encontrarse el alelo ancestral (C), se obtiene un patrón de corte con fragmentos de 62 y 65 pares de bases. Para el alelo derivado (T), éstos miden 90 y 24 pares de bases. Dado el reducido tamaño de los fragmentos de ADN, la determinación se realiza en geles de acrilamida en concentraciones mayores (10%). El voltaje no puede superar los 200 V, por lo que la electroforesis para este marcador es más lenta.



Gel acrilamida 10%

Locus M3



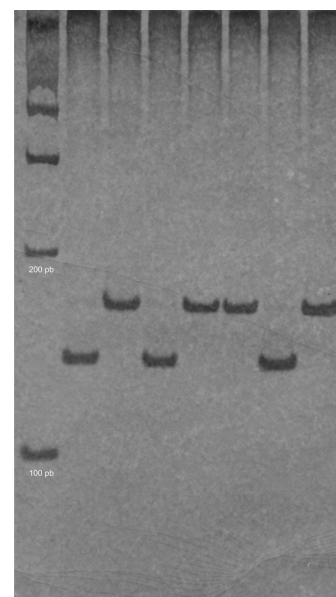
Gel agarosa 2%

También se trata de una mutación por transición de bases C – T. El programa de amplificación consta de 30 ciclos y la hibridación requiere 61° durante 40 segundos.

M3 forward 5'-TAATCAGTCTCCTCCCAGCA -3'

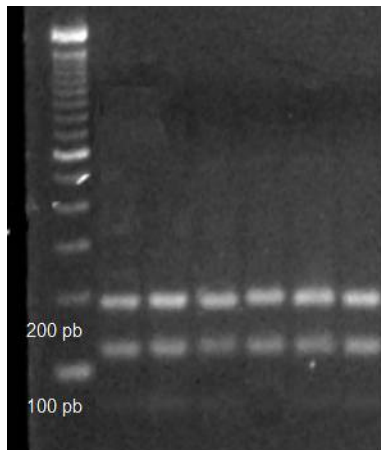
M3 reverse 5'-TAGGTACCAGCTCTTCCCAATT -3'

El resultado es un fragmento de 201 pares de bases, con un sitio blanco para la enzima Mfe I. Luego de la digestión se realiza una electroforesis en un gel de acrilamida. Si se visualizan dos fragmentos de 181 y 20 pares de bases, determinan la presencia del alelo ancestral (C). Si permanece del tamaño original, se trata del alelo derivado (T).



Gel acrilamida 6%

Locus M194



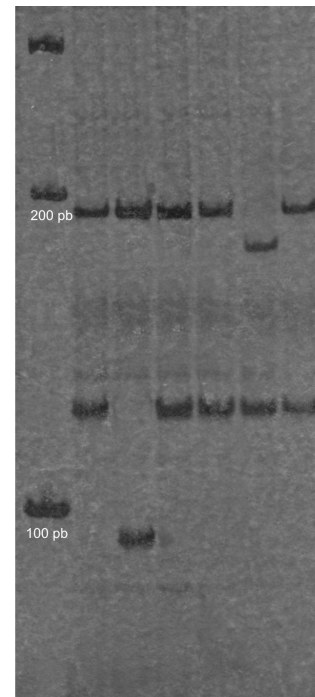
Gel agarosa 2%

Los cebadores para este marcador y el siguiente, M199, se diseñaron a fin de funcionar en las mismas condiciones de amplificación y obtener productos de tamaños compatibles. La verificación puede realizarse en un mismo gel de agarosa. Estas amplificaciones en duplex también se emplearon para los marcadores microsatélites, que se describen más adelante.

Permiten economizar ADN y enzima polimerasa, la única diferencia es que el volumen en que se realiza la reacción es 15 μ l, para obtener material suficiente para cumplir las dos digestiones posteriores. El programa se cumple en 40 ciclos, con una temperatura de hibridación de 55° durante un minuto. Genera un producto de 123 pares de bases.

M194 forward 5'- TGGATGAGGAAGTGAGTCCTG- 3'

M194 reverse 5'- CCGAGAAGGCAACGACTGTA- 3'



Gel acrilamida 6%

En la digestión se emplea la enzima Mbo II, que generará dos fragmentos de 88 y 35 pares de bases si está presente la base C, el estado derivado para este locus. Si no ha mutado (condición ancestral T), el fragmento mantiene su tamaño original.

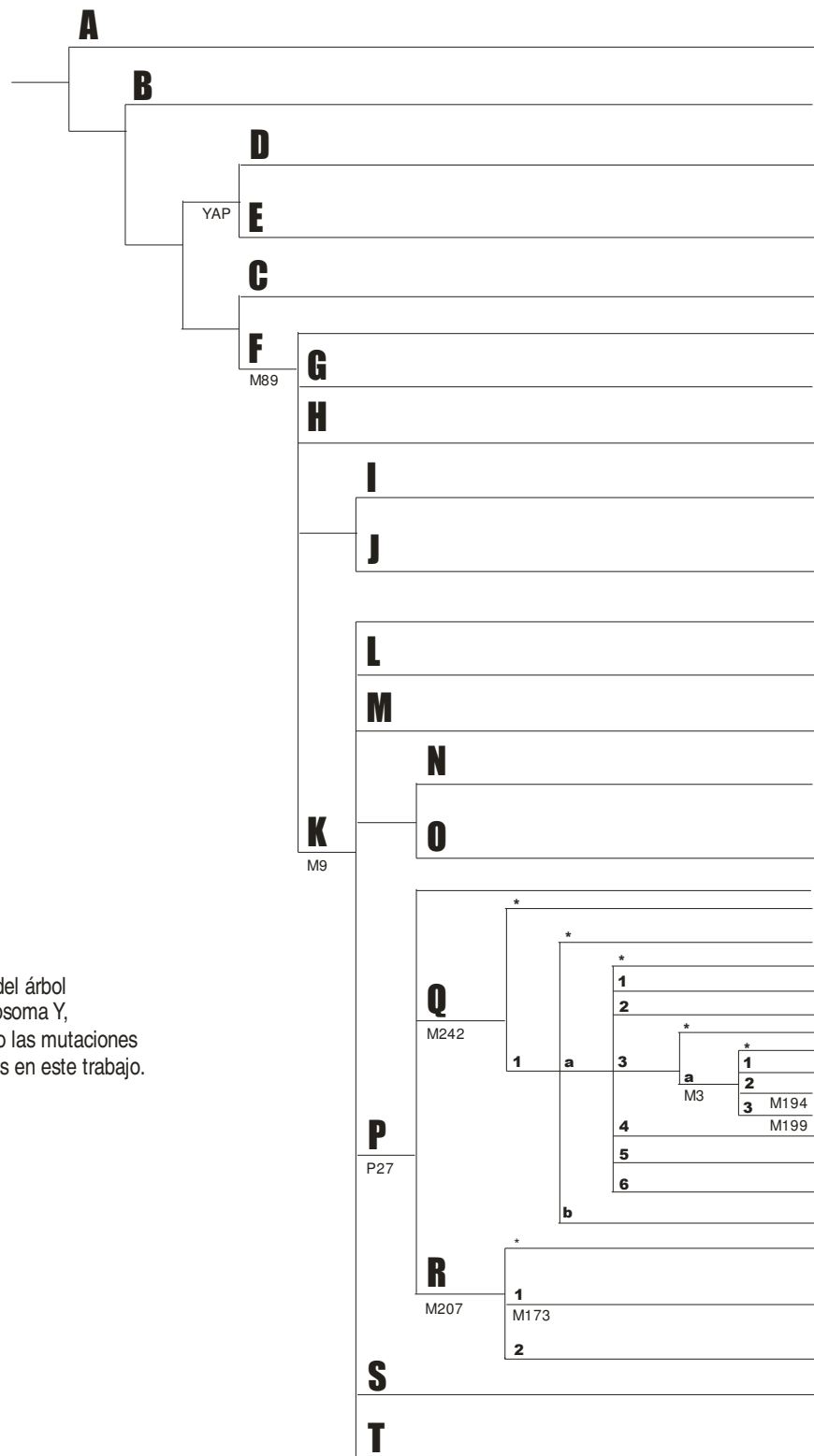
Locus M199

El programa de amplificación es, obviamente, el mismo que para el marcador M194.

M199 forward 5'- CACTACAGGCCTGGTTGGAT- 3'

M199 reverse 5'- AGTCTTAAGATTTGCAAAGTCGG- 3'

Se genera un fragmento de 189 pares de bases y para la determinación del polimorfismo se utiliza la enzima Eae I. Si el sitio blanco ha mutado a la base T, se obtienen dos fragmentos de 163 y 27 pares de bases. Si permanece la condición ancestral (base A), el amplicon no sufre ningún cambio durante la digestión.



Síntesis del árbol
del cromosoma Y,
señalando las mutaciones
analizadas en este trabajo.

Por otro lado, para identificar correctamente el total de haplogrupos presentes en las muestras del Banco de ADN del Laboratorio de Genética Molecular del MBICE, fue necesario sumar a éstos cuatro marcadores más, clasificados como:

- a) Inserciones o deleciones: *Tat* (Zerjal y col, 1997)
- b) Cambios de una sola base o *SNPs*: *M168* (Underhill y col. 2001), *M175* (Underhill y col. 2001), *RPS4Y* (Bergen, 1999)

Siguiendo las condiciones de amplificación y digestión detalladas en los trabajos referidos.

■ MARCADORES DE EVOLUCIÓN RÁPIDA (MICROSATÉLITES O STR)

Otro método para estudiar la diversidad es identificar los polimorfismos en microsatélites. Así se denominan las secuencias altamente repetitivas de nucleótidos en tandem o STR (del inglés "*Short Tandem Repeat*"). Las distintas variantes o alelos para cada microsatélite pueden determinarse contando la cantidad de veces que se repite el fragmento de ADN. Con un conjunto de siete marcadores puede lograrse una identificación individual. Estos datos más precisos son la base para construir haplotipos y los alelos que los definen tienen distribuciones diferenciales dentro de cada grupo étnico (Jobling, Tyler-Smith, 2003). Evolucionan de una forma alélica a otra mediante pasos cortos, con ganancias o pérdidas de una sola repetición, siendo las primeras más frecuentes que las segundas. Tienen una elevada tasa mutacional, registrándose cambios incluso de una generación a la siguiente, asociado a un aumento en la edad paterna y posibles cambios en la espermatogénesis (Gusmao y col, 2005). La tasa promedio es de $3,17 \times 10^{-3}$ por locus por generación. Los microsatélites tipificados en este trabajo son tri y tetranucleotídicos. Los cebadores fueron diseñados a fin de obtener productos de amplificación entre 120 y 393 pares de bases y permitiesen, en algunos casos, amplificaciones en múltiplex.

Todas las amplificaciones se llevaron a cabo en tubos con tapón integrado. El volumen de reacción fue de 10 microlitros, comprendiendo 3U de Taq ADN polimerasa Platinum (Invitrogen), 3 pmol de cada cebador, 200 μ M de desoxinucleótidos trifosfato (dNTP), 1.5 mM de Cloruro de Magnesio, buffer estabilizante 10X (Invitrogen), 10 a 50 nanogramos de ADN molde y agua desionizada. Para las reacciones se emplearon los cicladores térmicos PTC-100 (MJ Research) y Perkin Elmer mencionados anteriormente.

Los programas de amplificación tienen un primer paso común de desnaturalización a 94° centígrados de temperatura durante 2 a 3 minutos. Luego se suceden tres pasos variables según el microsatélite y se repiten de 35 a 40 veces.

- a- Desnaturalización a 94° C, durante 45 o 60 segundos

b- Hibridación o “*annealing*” durante un minuto, a temperatura entre 54° C y 57° C, dependiendo de la pareja de cebadores

c- Elongación, a 72° C durante 90 segundos

Para corroborar los resultados del proceso, los productos de amplificación se sometieron a electroforesis directa en geles de acrilamida al 6%. Las matrices se obtuvieron mediante el mismo protocolo descrito anteriormente, se colocaron en cada *slot* 3 microlitros por muestra con 1 microlitro de solución de carga y se conectó la cuba vertical a un voltaje constante de 200 V durante 2 horas. Los geles fueron teñidos luego con solución de nitrato de plata al 1,6%, seleccionando para la detección de polimorfismos aquellas muestras cuya amplificación de microsátélites resultara positiva

Como se vio anteriormente, las variantes de los loci se definen por poseer tamaños variables según la cantidad de veces que se presente el motivo de repetición. Esta característica hace innecesaria cualquier digestión enzimática y la separación de los polimorfismos por electroforesis es rápida, la determinación de cada forma alélica esté regida únicamente por su tamaño. En todos los sistemas analizados las diferencias entre un alelo y otro son tres o cuatro pares de bases, de modo que se usan geles de acrilamida desnaturalizantes al 8% con urea, de mayor poder de resolución. Se empleó el modelo de cuba Sequi-Gen® GT de BioRad, las matrices midieron en estos casos 21 x 40 centímetros y los geles se tiñeron con solución de plata.

Locus 19

También se denomina DYS 394. Fue el primer sistema de microsátélites definido para el cromosoma Y, comenzó a aplicarse en estudios forenses y luego en análisis poblacionales. La unidad de repetición es un tetranucleótido con la secuencia de bases [TAGA].

DYS 19- Forward: 5' GACTACTGAGTTTCTGCAATAGTG 3'

DYS 19- Reverse: 5' AGCACTGCACCTGGAAATAG 3'

El programa de amplificación incluye 35 ciclos, la temperatura de hibridación es de 57°C durante un minuto y genera un producto de 250 pares de bases. Existen nueve alelos diferenciados por la cantidad de unidades de repetición que presenten, desde 10 hasta 19.

Locus 389 I-II

DYS389-Forward 5' CCAACTCTCATCTGTATTATCTATG 3'

DYS 389- Reverse 5' TCTTATCTCCACCCACCAGA 3'

Son tetranucleótidos en repetición alternada [TCTG]_q [TCTA]_r para el marcador 389 I y [TCTG]_n[TCTA]_p[TCTG]_q [TCTA]_r para 389 II. El programa comprende 40 ciclos, los cebadores se acoplan a 54°C y los amplicones miden entre 250 y 380 pares de bases. Para el primer marcador se han definido nueve alelos y once para el segundo,

Locus 390

DYS390-Forward 5' TATATTTTACACATTTTGGGCC 3'

DYS 390- Reverse 5' TGACAGTAAATGAACACATTGC 3'

Estos cebadores se hibridan a 54° y generan un producto con tamaños variables entre 188 y 232 pares de bases, lo que permite que la amplificación se produzca en duplex con el marcador DYS 391, cuyas características se detallan abajo. La secuencia de repetición es [TCTG]_n [TCTA]_m[TCTG]_p[TCTA]_q, definiéndose 12 alelos.

Locus 391

DYS391-Forward 5' CTATTCATTCAATCATAACCCA 3'

DYS 391- Reverse 5' GATTCTTTGTGGTGGGTCTG 3'

El tetranucleótido es [TCTA], con un número repeticiones variables desde 6 hasta 14, con lo que se resuelven 9 alelos. Los productos de amplificación obtenidos miden desde 268 hasta 300 pares de bases.

Locus 392

DYS392-Forward 5' TCATTAATCTAGCTTTTAAAAACAA 3'

DYS 392- Reverse 5' AGACCCAGTTGATGCAATGT 3'

Este es el único de los sistemas empleados para definir haplotipos cuya unidad de repetición es el trinucleótido [TAT], que según se multiplique desde 6 hasta 17 veces permite distinguir 11 alelos. La hibridación de cebadores se produce a 51° C, el ciclado se cumple en 40 ciclos, que resultan en amplicones entre 234 a 267 pares de bases. Al igual que los loci 390-391, los productos de amplificación de este sistema y DYS 393, que se detalla debajo, permiten un ciclado en duplex

Locus 393

DYS393-Forward: 5' GTGGTCTTCTACTTGTGTCAATAC 3'

DYS 393-Reverse: 5' AACTCAAGTCCAAAAATGAGG 3'

Existen 9 alelos diferentes, variando la repetición [AGAT] entre 9 y 17 veces. El ciclado desarrollado con los cebadores descritos resulta en fragmentos entre 107 y 139 pares de bases.

ADN MITOCONDRIAL

Para establecer los linajes mitocondriales, se decidió secuenciar en forma completa las Regiones Hipervariables I y II. Se contrataron los servicios de MacroGen, empresa coreana que ofrece servicios de biotecnología al exterior, utilizando en este caso un secuenciador 3730xl (Applied Biosystem). El protocolo comprende una serie de pasos comunes a los detallados para los marcadores de cromosoma Y, comenzando con una amplificación por PCR. Las reacciones se llevaron a cabo en volúmenes de 50 μ l, constando de 3 U de Taq ADN polimerasa Platinum (Invitrogen), 0.25 μ M de cada cebador, 200 μ M de desoxinucleótidos trifosfato (dNTP), 1,5 mM de Cloruro de Magnesio, buffer estabilizante 10X (Invitrogen), agua desionizada y 10-30 nanogramos de ADN molde. Se emplearon siempre tubos de tapón integrado con capacidad de 0.5 mililitros. El programa de ciclado comprende 30 repeticiones:

- a- Desnaturalización a 94° C, durante 60 segundos
- b- Hibridación o “annealing”, a 51° C durante
- c- Elongación, a 72° C durante 60 segundos

Para la verificación del proceso, los productos de amplificación, de 1409 pares de bases, se sometieron a electroforesis en geles de agarosa al 1%. Las muestras se enviaron por correo, junto con alícuotas de los primers específicos. El nombre de cada uno señala la base a partir de la cual comienza la adición de nucleótidos.

F15905 5' TAATACACCAGTCTTGTA AACC 3'

F16475 5' TAGCTAAAGTGAAGTGTATCC 3'

B599 5' TTGAGGAGGTAAGCTACATA 3'

B597 5' GAGGAGGTAAGCTACATAAACT 3'

B186 5' GCCTGTAATATTGAACGTAGGTG 3'

Análisis estadístico

Los índices de diversidad proporcionan una medida de la cantidad de variación presente en una muestra, tienen un valor descriptivo y posibilitan comparaciones generales entre poblaciones. Las similitudes o diferencias halladas permiten realizar inferencias acerca de sus respectivas historias demográficas y postular relaciones filogenéticas intraespecíficas. Se utilizó el software ARLEQUIN versión 3.11 en los siguientes cálculos intra-poblacionales para las localidades de Azampay, San Fernando del Valle de Catamarca, San Salvador de Jujuy, Salta y San Miguel del Tucumán:

- La diversidad haplotípica se define como la probabilidad de que dos haplotipos, seleccionados al azar en una muestra, sean diferentes entre sí. Mientras mayor sea esta probabilidad, más diversa será la muestra y, por ende, también la población de la que fue tomada. El programa emplea la siguiente fórmula (Nei, 1987) para calcular la diversidad y su varianza muestral,

$$\hat{H} = \frac{n}{n-1} \left(1 - \sum_{i=1}^k p_i^2\right)$$

$$V(\hat{H}) = \frac{2}{n(n-1)} \left\{ 2(n-2) \left[\sum_{i=1}^k p_i^3 - \left(\sum_{i=1}^k p_i^2 \right)^2 \right] + \sum_{i=1}^k p_i^2 - \left(\sum_{i=1}^k p_i^2 \right)^2 \right\}$$

siendo n el número de alelos en la muestra, k el número de haplotipos y p_i la frecuencia del/de los i haplotipo/s.

- Del mismo modo puede expresarse la diversidad génica, equivalente a la heterocigosidad esperada para datos diploides, pero en este caso corresponde a la hererocigosidad esperada por locus. Este índice puede fluctuar entre distintos marcadores, asociado tanto a tasas mutacionales dispares como a pérdidas de alelos por reducción del número efectivo. Es una medida de variabilidad que permite comparar poblaciones tanto locus por locus, como en su valor promedio. En la presente tesis se emplea este último parámetro.

- El índice Garza-Williamson es un estadístico que relaciona el número de alelos para un loci determinado con el rango alélico (en los datos de microsatélites, rango es la diferencia entre

el número máximo y mínimo de repetidos). Al expresarse como una división, este cálculo es muy sensible a los fenómenos que ocasionan cambios en el valor del numerador. Es un índice de eventos como cuellos de botella, ya que el número de alelos generalmente se ve más afectado que el rango en una reducción reciente del tamaño poblacional. Tiende a ser cercano a uno en poblaciones estacionarias y presenta valores mucho menores en aquellas que han atravesado periodos drásticos de disminución numérica,

$$G - W = \frac{k}{R + 1}$$

siendo k el número de alelos para un loci determinado en la muestra y R el rango alélico.

- La distribución “*Mismatch*” o de pares de diferencias, es otro modo de representar la diversidad molecular para datos cuyas diferencias entre alelos sean discretas (en el caso de microsatélites, con diferencias en el número de repetidos). Analizando la forma que tome la distribución de las diferencias observadas entre pares de haplotipos de una misma población, pueden suponerse circunstancias pasadas. Influyen aquí los eventos de expansión poblacional: un gráfico de campana indica un crecimiento rápido a partir de un haplotipo determinado, mientras que para una población de tamaño estable a lo largo del tiempo se espera una distribución multimodal.

Cada población humana posee características particulares y también comparte con cualquier otra población considerada el estar sujetas a las mismas fuerzas y procesos evolutivos que incrementan o reducen su variabilidad. En esta tesis se consideró el efecto de las fluctuaciones de número en el tamaño efectivo poblacional, ya que se ve perturbado en gran medida cuando este factor es pequeño. La condición de semi-aislamiento en que se encuentra la comunidad de Azampay es una particularidad evidente a nivel espacial, pero su impacto a nivel poblacional debe medirse en la dimensión justa. Dado que la elección de posibles parejas está regidas por un esquema de valores individual, cualquier población considerada estaría siempre parcialmente aislada o subdividida, modificando el tamaño efectivo poblacional. Si el aislamiento se prolonga, eventualmente conducirá a una diferenciación genética parcial, los miembros de cada sub-población estarán vinculados de manera más estrecha. Debe computarse aquí el número, tamaño y localización espacial de la sub-población y el potencial flujo génico ocasionado por migración:

- La medida estadística aplicada es el índice F_{ST} , que deriva de los índices de fijación propuestos por Wright para evaluar la desviación de las frecuencias de heterocigotas observadas de aquellas esperadas (Jobling, Hurles, Tyler-Smith, 2004): la divergencia de una sub-población ocasionaría un exceso de homocigotas. F_{ST} mide el grado diferencial de variación genética entre sub-poblaciones y compara el promedio de diversidad genética encontrado dentro de cada una en relación a una población mayor. Cada localidad se considera como una sub-población dentro de un grupo principal.

$$F_{ST} = \frac{(H_T - H_S)}{H_T}$$

Donde H_T es la heterocigosidad esperada en la población y H_S es la esperada en la sub-población. El valor de F_{ST} varía entre 0 y 1. Cuando el flujo génico es alto y existe poca diferenciación entre dos sub-poblaciones, se aproxima a cero. También puede calcularse para pares de poblaciones como un modo de medir la distancia genética entre ellas (Reynolds y col, 1983). El estadístico F_{ST} también puede ajustarse específicamente para datos de microsatélites. El índice R_{ST} (Suma de los Cuadrados de las Diferencias de Tamaño) es su análogo molecular, basado en el modelo de mutación gradual ("*Stepwise Mutation Model*", Kimura y Ohta, 1978) y permite analizar la subdivisión poblacional sobre frecuencias (Slatkin, 1995).

$$d_{xy} = \sum_{i=1}^L (a_{xi} - a_{yi})^2$$

siendo a_{xy} el número de repetidos en un microsatélite para el/los i haplotipo/s.

- El análisis de la varianza molecular (AMOVA por "*Analysis of MOlecular VAriance*", Excoffier y col, 1992) es un modo de aproximarse a la estructura genética de la población mayor que hemos definido, estudiando la estructura de la varianza. Se consideran las relaciones moleculares entre alelos –el número de mutaciones entre haplotipos- más que las frecuencias génicas. Se pretende comprobar si existe una estructura genética entre un grupo determinado de poblaciones, el análisis jerárquico divide la varianza total en sus componentes debido a las diferencias intra-individuales, inter-individuales e inter-poblacionales. Para los datos haploides, se asume que el vector de frecuencias para i haplotipo/s de la/s j población/nes reunidas en k grupo/s es una relación lineal

$$x_{ijk} = x + a_k + b_{jk} + c_{ijk}$$

el término *a* analiza los efectos para grupos, el *b* para poblaciones y *c* para los haplotipos dentro de una población dentro de un grupo, cada uno con un componente de covarianza asociado

$$(1)\sigma_a^2$$

$$(2)\sigma_b^2$$

$$(3)\sigma_c^2$$

La varianza molecular total resultará de la suma de los componentes y será reflejo de la varianza debida a diferencias entre haplotipos dentro de una población (3) entre haplotipos en diferentes poblaciones dentro de un grupo (2) y a las diferencias entre poblaciones (1)

- Para ver distancias genéticas a corto plazo, se compararon las localidades entendidas como entidades independientes, computando índices de disimilaridad entre pares. En el caso de microsatélites, se emplea el estadístico R_{ST} ya mencionado y la significación se testea permutando haplotipos entre poblaciones, estableciendo una probabilidad de diferenciación. A mayor cantidad de permutaciones, más ajustadas resultarán las distancias genéticas, expresadas en una matriz. Para considerar dos localidades como significativamente diferentes más allá del azar, el nivel se fija arbitrariamente en 0,05. Cualquier valor menor resultante de la comparación de a pares, indicará una diversidad intrapoblacional tal que no hará posible sostener una similitud entre dos localidades.

- Además de aplicarse para analizar las diferencias históricas expresadas como distancias, la comparación entre localidades tomadas de a pares puede aportar información sobre la dinámica poblacional. Cuando la deriva actúa en subpoblaciones de tamaño efectivo bajo puede aumentar las diferencias entre ellas y se cuantifica mediante el Índice de Fijación R_{ST} . La migración tiene el efecto contrario, homogeneizando las frecuencias alélicas. Deriva y migración son dos fuerzas de signo opuesto, la migración es un freno contra la diferenciación genética de las subpoblaciones y dado que se computa como un producto, puede tener los mismos efectos en poblaciones grandes entre las que existe poca migración como en poblaciones de escaso tamaño efectivo entre las que la migración es alta. ARLEQUIN calcula la matriz de valores M , una medida relativa que expresa la cantidad de migrantes por generación que intercambian dos poblaciones entre sí y puede estar o no en relación a la distancia geográfica.

- A partir de la matriz de distancias genéticas, se desarrollaron dos análisis, basados en:

I. Métodos jerárquicos: para agrupar potenciales clusters y construir un árbol de clasificación o dendograma, una forma gráfica de resolver las medidas de similitud siguiendo niveles de fusión inclusiva. Los cálculos se computaron con el programa NTSYSpc 2.11 (de *Numerical Taxonomy SYStem*, Applied Biostatistics Inc, 2000-2003) empleado el método UPGMA (*“Unweighted Pair-Groups with Arithmetic Means Analysis”*). Creado por Sokal y Michener (1958) para construir fenogramas, puede aplicarse en el análisis de árboles filogenéticos si se consideran las tasas evolutivas como constantes entre los linajes. UPGMA utiliza las medias aritméticas de las distancias pareadas entre dos poblaciones para establecer las agrupaciones o cluster, desde la menor distancia hasta la mayor. Cuando se analizan poblaciones humanas a partir de haplotipos, la relación entre la distancia evolutiva y el tiempo de divergencia puede resultar solo aproximada y parcial. Para comprobarlo, a partir de la misma matriz de distancias genéticas con que se computó el dendograma, se realizó un análisis de coordenadas principales, un método de ordenación de las diferencias entre poblaciones, en un campo de dos ejes. Finalmente, para ambas gráficas se calculó el coeficiente de correlación cofenética, a fin de medir la bondad del ajuste entre los valores mostrados de distancias y la matriz original.

II. Métodos de correlación: de la distancia geográfica con la genética, a fin de detectar si la estructura espacial de la variación responde a un proceso de aislamiento por distancia (Rousset, 1997). Esto supone que la probabilidad de migrar resulta inversamente proporcional a la extensión a recorrer. Se utilizó el programa PASSaGE 2 (por *“Pattern Analysis, Spatial Statistics and Geographics Exegesis”* Rosenberg, 1998-2009) de acceso libre. Por cada par de poblaciones consideradas se compara la matriz de distancia genética con la matriz de distancias geográficas, expresadas en coordenadas de latitud y longitud. Se utilizó el test de Mantel (Mantel, 1967; Mantel y Valand, 1970) que mide las posibles relaciones entre todos los puntos de dos matrices y calcula un coeficiente de correlación con valores entre -1 y 1, dependiendo del ajuste entre ambas. Sean X e Y las matrices, i y j cualquier punto diferente entre ellas, la fórmula es

$$Z = \sum_{ij} X_{ij}Y_{ij}$$

- Finalmente, cuando las poblaciones se definen a partir de sus componentes moleculares, es crucial considerar de manera cabal los fenómenos que dieron origen a esa variación y otorgar en el análisis el peso adecuado a cada dato. Se ha señalado ya que el genoma de nuestra especie posee tasas mutacionales diferentes, incluso dentro de una misma región considerada.

Aquí se aplica la aproximación de Bandelt, Foster y Röhl (1995) denominada “*Median Networks*” o método de las redes medias, que relaciona de la manera más parsimoniosa un conjunto de datos en una única red. En 1999, los mismos autores presentaron un método diferente para construir redes según el algoritmo de “*median-joining*” o enlaces medios. Permite manipular conjuntos mayores de datos, reuniéndolos en un retículo parsimonioso a través de vectores y nodos que representan tanto a individuos no relevados en la muestra como a posibles ancestros extinguidos. A partir de este trabajo, la empresa Fluxus desarrolló el software NETWORK 4.5.1 (Network © Copyright Fluxus Technology Ltd 1999-2007), de acceso libre (<http://www.fluxus-engineering.com/sharenet.htm>), una plataforma que permite calcular distancias y dibujar redes de manera sencilla. Los sistemas que definen haplotipos incluyen caracteres con diversos estados posibles -los distintos alelos de cada locus- con tasas de mutación propias. Para considerar de manera adecuada la variabilidad, el programa admite la asignación diferencial de un peso relativo a cada carácter, a fin de no homologar locus estables en el tiempo con aquellos de tasas más elevadas de cambio. En los haplotipos de cromosoma Y, se empleó la fórmula de para la estimación de peso Muzzio y colaboradores (2008), a partir de los datos publicados en la base internacional YHRD (Willuweit y col, 2007- Ver ANEXO - TABLA 1). Dado que el software no admite decimales, los números finales se redondearon. Cada locus recibe un peso relativo, los valores más altos se corresponden con las tasas mutacionales más bajas.

<i>DYS 19</i>	4	<i>DYS 391</i>	3
<i>DYS 389 a</i>	4	<i>DYS 392</i>	10
<i>DYS 389 b</i>	3	<i>DYS 393</i>	7
<i>DYS 390</i>	4		

Analizando haplotipos en este programa es posible detectar eventos de expansión demográfica pretéritos, pero éstos pueden no resultar evidentes en una gráfica. Se decidió entonces procesar previamente los datos con el algoritmo de reducción “*star contraction*”, a fin de reunir más cercanos al fundador todos los posibles nodos relacionados. Las redes obtenidas se sometieron a un último análisis MP (*maximun parsimony*, Polzin y col, 2003) para obtener el árbol que mejor represente los resultados, descartando vectores y uniones aleatorias.

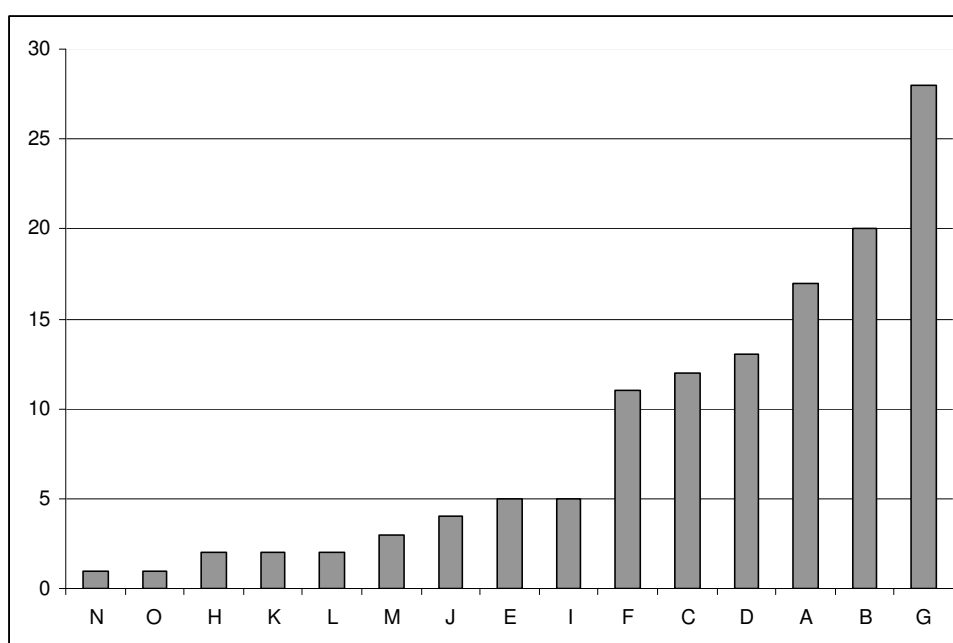
Genealogías

Para ordenar y analizar los datos genealógicos obtenidos en las entrevistas se utilizó el software GenoPro® (www.genopro.com), una plataforma de trabajo que permitió crear, editar e imprimir árboles nucleares y extensos, además de incorporar fotografías. Para la edición y compaginación de todos los gráficos presentados se empleó el programa CorelDRAW X3 ® (Corel Corporation 2005).

Resultados

Al momento de realizarse este estudio, Azampay contaba de manera efectiva con 126 habitantes y un total de 15 apellidos, distribuidos como se señala en el cuadro. A todos se les asignó un código, correspondiendo a las 15 primeras letras del alfabeto y a cada individuo un número. El apellido G resultó el más frecuente, con 28 individuos portadores.

GRÁFICO 1 – FRECUENCIAS ABSOLUTAS DE APELLIDOS



De esta lista, 9 apellidos están representados tanto entre mujeres como entre varones (89% del total de la población), mientras que 4 son exclusivamente femeninos (6%) y 2 masculinos (5%). Como se mencionara en la Introducción, la historia de Azampay comienza con la ocupación efectiva de los campos por un grupo de familias. Este núcleo estaba formado por cuatro parejas y entre estas 8 personas ya se encontraban 7 de los 15 apellidos actuales, mientras que el restante se ha perdido. La pauta de registrar, portar y heredar un apellido es introducida en América por la administración colonial. Los nombres que se recibían en los bautismos eran extranjeros, pero también persistieron algunos autóctonos. Entre los apellidos de la población de Azampay, 13 son foráneos -Aibar, Campos, Cardoso, Casimiro, Coria, González, Marcial, Morales, Moreno, Ochoa, Ortiz, Pachado, Titos- 1 nativo -Aballay- y el restante -Cruz-

se registra como devocional, derivado de la liturgia religiosa (Dipierri, 2004). Mascitti y colaboradores (1990) clasifican los apellidos devocionales como “autóctonos encubiertos”.

CROMOSOMA Y

De las 59 muestras de ADN de donantes masculinos de Azampay, solo 55 pudieron estudiarse de manera completa. El análisis comprendió la tipificación de todos los marcadores moleculares ya detallados. Para las muestras del Banco de ADN del Laboratorio de Genética Molecular Poblacional, se establecieron los haplogrupos en los 290 individuos (presente trabajo), mientras que la cantidad de haplotipos completos para los 7 *STR* fue de 167, (Martinez-Marignac y colaboradores (2001) y Muzzio (*inédito*))

TABLA 1 - HAPLOGRUPOS Y HAPLOTIPOS EN AZAMPAY

HAPLOGRUPOS	<i>n</i>	HAPLOTIPOS
R	22	19
R1	22	17
F	3	3
Q1a3a	7	4
D/E	1	1

El haplogrupo R es el más representado en la muestra y también el que exhibe mayor diversidad individual. Al combinar cada secuencia de alelos en las mutaciones de punto con el número de repetidos para cada locus de microsatélite, se identifica un linaje molecular único. Si esta variedad se circunscribe a la característica de llevar el mismo apellido, obtenemos una medida de la diversidad intrafamiliar.

TABLA 2 - LINAJES MASCULINOS POR APELLIDO

											TOTAL
Código de APELLIDO	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	10
Cantidad de LINAJES	10	6	4	5	1	7	7	2	1	1	44
<i>N</i>	10	6	4	8	1	7	12	2	1	4	55

Los apellidos E, I y J son los únicos que tienen una correspondencia completa entre herencia de nombre y herencia de cromosoma Y, aunque en los dos primeros casos se trata de una condición obligada, ya que están representados sólo por una persona. Los apellidos A y B resultaron los más diversos, aunque no son los que cuentan con mayor cantidad de portadores.

TABLA 3 - HAPLOGRUPOS POR LOCALIDAD

	AZAMPAY	CATAMARCA	SALTA	TUCUMÁN	JUJUY
A/B	-	-	-	1 (6%)	-
C	-	1 (0,9%)	-	-	1 (1,3%)
D/E	1 (1,8%)	10 (9%)	6 (7,2%)	2 (12%)	1 (1,3%)
F	3 (5,3%)	21 (18,7%)	6 (7,2%)	4 (24%)	3 (3,9%)
K	-	1 (0,9%)	1 (1,2%)	-	6 (7,8%)
P	-	6 (5,4%)	8 (9,5%)	1 (6%)	2 (2,6%)
Q	-	-	1 (1,2%)	-	-
Q1a3a	7 (12,3%)	11 (10%)	37 (44%)	2 (12%)	50 (65%)
R	22 (40,3%)	16 (14,3%)	14 (16,6%)	3 (17,6%)	14 (18,2%)
R1	22 (40,3%)	46 (41%)	11 (13 %)	4 (24%)	-
<i>n</i>	55	112	84	17	77

En todas las localidades analizadas se determinaron haplogrupos a partir de marcadores binarios y su diversidad resultó coherente, las frecuencias más altas (señaladas en negrita) se dan en haplogrupos presentes en todo el conjunto. El número máximo fue 8, en las dos poblaciones con mayor número muestral. En una primera lectura comparativa de las frecuencias del haplogrupo R1, Azampay presenta porcentuales más similares a Catamarca. En la localidad de Tucumán, a pesar de ser la menos representada ($n = 17$), se identificaron 7 haplogrupos diferentes, 2 más que en Azampay, cuyo tamaño es tres veces mayor.

Entre los 44 linajes para Azampay, 37 son únicos, en una frecuencia de 0,022. Los restantes son compartidos entre individuos con distinto apellido, en frecuencias de 0,044 y 0,066. Dado de los linajes se definen por la combinación de dos sistemas de marcadores con tasas mutacionales diferentes, es importante discriminar adecuadamente entre una posible igualdad por descendencia de una igualdad por estado. Si se detecta la presencia de los mismos linajes moleculares en dos localidades, puede proponerse alguna vinculación histórica; pero también caer en el error de sobreestimar la similitud si no se consideran adecuadamente las homoplasias. Este término se empleó originalmente en estudios evolutivos para referirse al

hecho de que un mismo carácter actual, presente en dos especies, no siempre ha derivado del mismo carácter ancestral. A nivel genético, dos alelos son homoplásicos cuando poseen un estado idéntico y no comparten descendencia (Estoup y Cornuet, 1999). La identidad alélica se refiere solo al tamaño medido en pares de bases, intrínsecamente existen diferencias en cuanto a su estructura, presencia de inserciones y/o deleciones, cambios de bases o variaciones en la región flanqueante (Primmer y Ellergren, 1998). Éste es un tipo de polimorfismo que puede detectarse únicamente por secuenciación. Cuando se analizan individuos mediante microsatélites, amplificando los loci por PCR y empleando electroforesis para asignar tamaños, pueden cometerse errores si no se vinculan con marcadores de tipo *SNP*'s. Todos los linajes computados en ARLEQUIN (Azampay=44, Catamarca=59, Salta=41, Tucumán=4, Jujuy=63), se ingresaron a la base de datos con un código único, síntesis de la procedencia de la muestra y del haplogrupo al que perteneciera.

TABLA 4 - HAPLOTIPOS EN AZAMPAY Y COMPARTIDOS

	<i>n</i>	ALELOS	CATAMARCA	SALTA	TUCUMÁN	JUJUY
Hp1	1	15 12 28 24 11 12 13	-	-	-	-
Hp2	1	14 12 29 24 11 13 13	-	-	-	-
Hp3	1	14 12 29 24 11 11 13	-	-	-	-
Hp4	1	15 12 29 24 11 13 14	-	-	-	-
Hp5	1	15 12 29 24 11 14 13	-	-	-	-
Hp6	1	16 12 30 21 10 12 15	-	-	-	-
Hp7	1	15 12 30 22 10 12 14	-	-	-	-
Hp8	1	14 12 30 24 11 13 13	1	-	-	-
Hp9	1	14 12 30 24 11 12 13	-	-	-	-
Hp10	1	14 12 32 24 11 14 13	-	-	-	-
Hp11	1	15 13 28 23 11 13 13	-	-	-	-
Hp12	1	15 13 28 24 10 12 13	-	-	-	-
Hp13	1	14 13 28 24 10 12 14	-	-	-	-
Hp14	1	14 13 29 23 11 14 13	-	-	-	-
Hp15	1	14 13 29 24 10 13 13	1	-	-	•
Hp16	1	15 13 30 23 11 13 13	-	-	-	-
Hp17	1	17 13 30 23 12 13 13	-	-	-	-
Hp18	1	17 13 30 23 11 13 13	-	-	-	-
Hp19	1	14 13 30 24 10 13 13	-	-	-	-
Hp20	3	14 13 30 24 11 14 13	1	-	-	•
Hp21	2	14 13 30 24 11 14 14	-	-	-	-
Hp22	1	14 13 30 24 10 12 12	-	-	-	-
Hp23	1	14 13 30 24 10 14 13	-	-	-	-

	<i>n</i>	ALELOS	CATAMARCA	SALTA	TUCUMÁN	JUJUY
Hp24	2	14 13 30 24 11 12 13	1	-	-	-
Hp25	1	13 13 30 25 11 11 13	-	-	-	-
Hp26	1	14 13 31 24 10 15 12	-	-	-	-
Hp27	1	14 13 31 24 11 13 13	-	-	-	1 •
Hp28	1	14 13 31 24 11 14 13	-	-	-	-
Hp29	1	14 13 32 23 10 11 12	-	-	-	-
Hp30	1	14 14 30 24 11 13 14	-	-	-	-
Hp31	1	16 14 31 23 11 13 13	-	-	-	-
Hp32	1	15 14 31 23 11 13 13	-	-	-	-
Hp33	1	14 14 31 24 11 13 13	-	-	-	-
Hp34	1	14 14 32 24 11 10 13	-	-	-	-
Hp35	1	14 14 29 23 12 12 13	-	-	-	-
Hp36	1	15 14 29 24 11 13 13	-	-	-	-
Hp37	1	14 14 29 23 10 13 13	-	1	-	-
Hp38	1	14 14 29 24 11 13 13	-	-	-	-
Hp39	1	14 14 32 24 11 12 13	-	-	-	-
Hp40	1	13 14 32 24 10 11 13	-	-	-	-

Marcadores STR: DYS 19, DYS 389a, DYS 389b, DYS 390, DYS 391, DYS 392, DYS 393

• Homoplasias detectadas

Los alelos se nominaron según el número de repeticiones que presentaran. De los 6 haplotipos compartidos, en 3 casos se reconocieron homoplasias. Se trata de combinaciones espurias, comprendiendo a muestras de haplogrupos diferentes. No se registró ninguna correspondencia entre Azampay y Tucumán, mientras que con Catamarca se dan 2, el máximo de coincidencias en este nivel de comparación. Se encontró divergencia entre las poblaciones en cuanto a las frecuencias de cada alelo en particular, para cada loci de microsatélite analizado. Los resultados se muestran en ANEXO – TABLA 2.

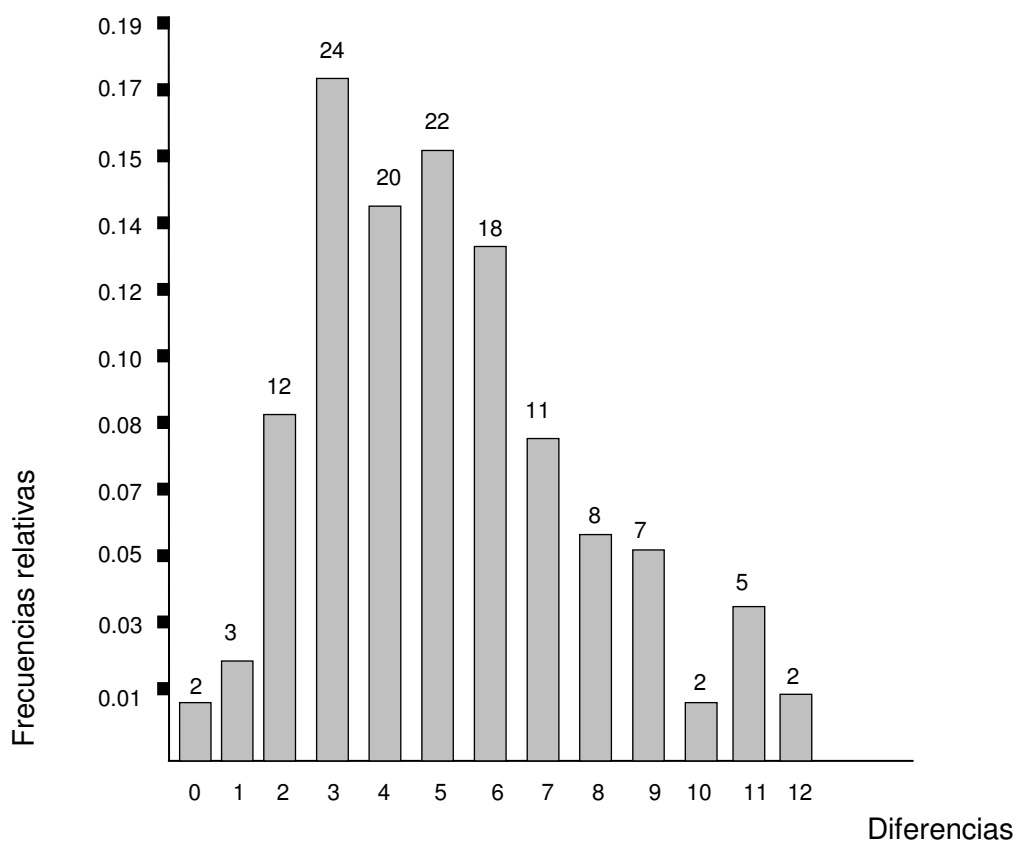
TABLA 5 - DIVERSIDAD INTRAPOBLACIONAL PROMEDIO

	AZAMPAY	CATAMARCA	SALTA	TUCUMÁN	JUJUY
D.haplotípica	<i>1.0000</i> +/- <i>0.0047</i>	<i>1.0000</i> +/- <i>0.0031</i>	<i>1.0000</i> +/- <i>0.0054</i>	<i>1.0000</i> +/- <i>0.1768</i>	<i>1.0000</i> +/- <i>0.0028</i>
D. génica promedio	<i>0.57</i> +/- <i>0.32</i>	<i>0.64</i> +/- <i>0.35</i>	<i>0.64</i> +/- <i>0.36</i>	<i>0.76</i> +/- <i>0.55</i>	<i>0.60</i> +/- <i>0.33</i>
Rango alélico promedio	<i>3.571</i>	<i>4.571</i>	<i>3.714</i>	<i>2.857</i>	<i>3.571</i>

	AZAMPAY	CATAMARCA	SALTA	TUCUMÁN	JUJUY
Indice G-W	<i>1.00000</i>	<i>0.97959</i>	<i>0.96429</i>	0.77381	<i>1.00000</i>
<i>n</i>	44	59	41	4	63

Los valores extremos para cada índice se destacan en negrita, registrándose generalmente en Tucumán, su rango alélico es menor al resto, lo que disminuye también el índice Garza-Williamson. Azampay tiene la menor diversidad génica, en tanto su rango alélico es igual al de Jujuy.

GRÁFICO 2 – DISTRIBUCIÓN MISMATCH AZAMPAY



Otro modo de abordar la variabilidad dentro de una población es a través de la distribución Mismatch, ya que los cambios en el tamaño poblacional tienden a dejar marcas reconocibles en los patrones de diversidad alélica (Rogers y Harpending, 1992). En el análisis se incluyen solo los 17 linajes para Azampay que comparten el mismo sub-haplogrupo R1. En el gráfico de columnas, se obtiene una curva quebrada, con la frecuencia más elevada en los 3

pasos mutacionales. Los haplotipos distan entre sí a un número promedio de 5,14 pasos, la mayoría lo hace a 3 o 6 y muy pocos a cantidades más extremas, con registro de variación desde cero hasta doce.

TABLA 6 - R_{ST} POR POBLACIÓN

	AZAMPAY	CATAMARCA	SALTA	TUCUMÁN	JUJUY
R_{ST}	0,18638	0,17607	0,17844	0,16775	0,18645

Las potenciales subdivisiones poblacionales se exploraron a partir del índice R_{ST} . En Azampay y Jujuy se registraron valores prácticamente idénticos. Estas dos poblaciones, si bien divergen en número de muestra, son similares en sus niveles de variabilidad.

TABLA 7 - ANÁLISIS DE LA VARIANZA MOLECULAR (AMOVA)

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	COMPONENTES DE LA VARIANZA	PORCENTAJE DE VARIACIÓN
Entre poblaciones	4	234,44	1,32	18,16
Dentro de poblaciones	207	1232,95	5,96	81,84
TOTAL	211	1467,39	7,28	
ÍNDICE R_{ST}	0,18			

Las cinco poblaciones se reunieron artificialmente como componentes en un solo grupo y se analizó la estructura de la varianza mediante AMOVA. Los grados de libertad en el cómputo entre poblaciones está dado por *Total de Poblaciones – 1* y en el cómputo dentro de poblaciones por *Total de Individuos – 1*. Los porcentajes finales de variación fueron estadísticamente significativos, con un valor de $P < 0,001$.

TABLA 8 - DISTANCIAS GENÉTICAS R_{ST} APAREADAS (bajo la diagonal) Y PROBABILIDADES DE DIFERENCIACIÓN (sobre la diagonal) ENTRE POBLACIONES

	AZAMPAY	CATAMARCA	SALTA	TUCUMÁN	JUJUY
AZAMPAY	-	0.00000	0.00000	0.02479	0.00000
CATAMARCA	0.08448	-	0.11570	0.13223	0.00000
SALTA	0.10272	0.01882	-	0.04959	0.00000
TUCUMÁN	0.18462	0.09483	0.20460	-	0.00000
JUJUY	0.23462	0.29903	0.22727	0.44058	-

Valores de $P < 0,05$ en negrita
Número de permutaciones=1000

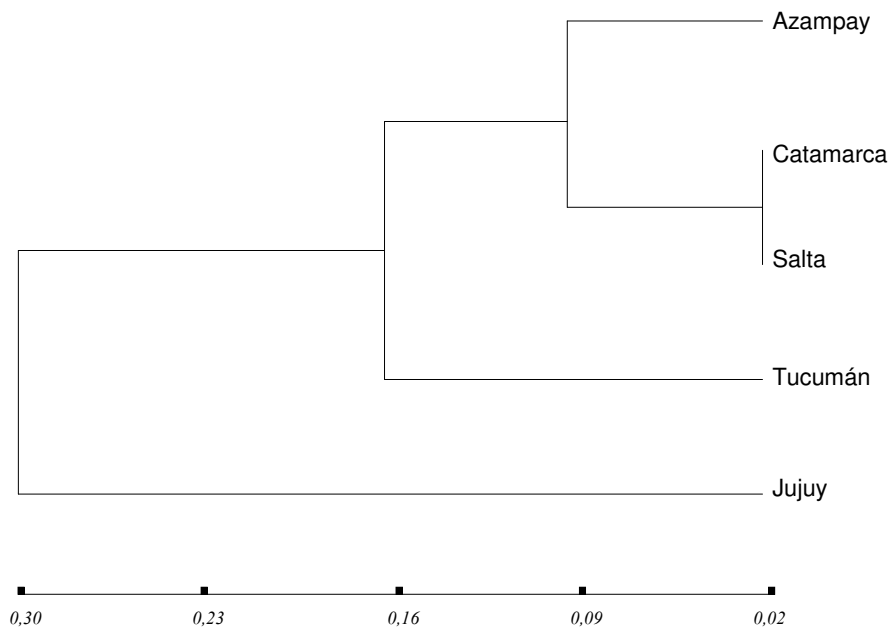
Descomponiendo el grupo único en las poblaciones originales, se computaron los valores de disimilaridad de a pares, en una matriz de distancias genéticas. En el mismo gráfico, se presentan las probabilidades estadísticas de tales diferencias más allá del azar. Las mayores se registraron siempre contra Jujuy, cualquiera sea el dúo de localidades considerado. Para Azampay, todas las distancias resultaron estadísticamente significativas.

TABLA 9 - MATRIZ DE VALORES M

	AZAMPAY	CATAMARCA	SALTA	TUCUMÁN	JUJUY
AZAMPAY	-				
CATAMARCA	5.41861	-			
SALTA	4.36760	26.07279	-		
TUCUMÁN	2.20829	4.77277	1.94374	-	
JUJUY	1.63111	1.17205	1.69999	0.63486	-

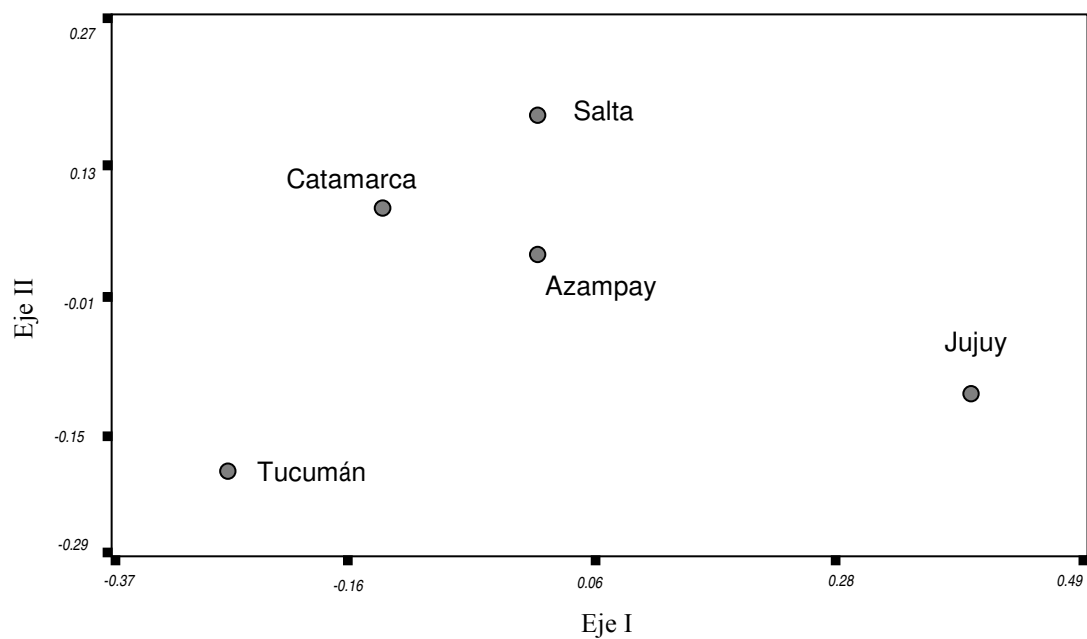
Una distancia genética menor puede entenderse como producto de un proceso migratorio. Si entre dos poblaciones se observan valores de disimilitud bajos, los individuos que las componen pueden tener una historia e incluso un presente común. Los valores M representan una medida aproximada de la cantidad de migrantes que se intercambian, por generación, entre pares de poblaciones. Para Azampay, el mayor número se computa con Catamarca (5,4) y el menor se registra con Jujuy.

GRÁFICO 3 - ARBOL UPGMA



A partir de la matriz de distancia genética (ver TABLA 8), se computó un árbol de clasificación filogenética. Se estableció una agrupación o cluster bien definido que incluye Catamarca y Salta con menores distancias y luego Azampay. La localidad más exterior resultó Jujuy, en correspondencia con otros índices registrados en comparaciones anteriores. El coeficiente de correlación cofenético para este cómputo fue $r = 0,85$.

GRÁFICO 4 - ANÁLISIS DE COORDENADAS PRINCIPALES



Con la misma matriz de distancias genéticas, se realizó el Análisis de Coordenadas Principales, acumulando el primer eje el 63,3 % de la variación. El índice de bondad de ajuste fue $r = 0.96694$.

A partir de los datos de latitud y longitud de todas las poblaciones, se calculó una matriz de distancia en kilómetros, con el programa PASSaGE. Se comparó con la matriz de distancias genéticas (TABLA 8), a través del test de Mantel y la probabilidad de dicha correlación a través de un test a dos colas. Ambos parámetros de distancia presentaron un índice de correlación negativo $r = -0,09$ y no significativo, verificándose la hipótesis nula: no existe una relación lineal entre los valores de ambas matrices, ni estructuración espacial de la variabilidad.

Las redes “*median-joining*” se calcularon sólo para aquellos haplotipos asignables a los mismos subhaplogrupos, el mayor grado de diferenciación estudiado con marcadores binarios. Se relacionaron así 71 individuos de las cinco poblaciones estudiadas incluidos dentro de Q1a3a (GRÁFICO 5) y 48 dentro de R1 (GRÁFICO 6). Estos cálculos, al igual que la gráfica de la curva de distribución mismatch, no consideran todos los linajes presentes en Azampay ni en las restantes localidades, pero abarcar otros haplotipos sin más precisión sobre su haplogrupo, tal como es el estado de conocimiento hasta el momento, arrojaría resultados confusos y llevaría, con toda probabilidad, a conclusiones erróneas.

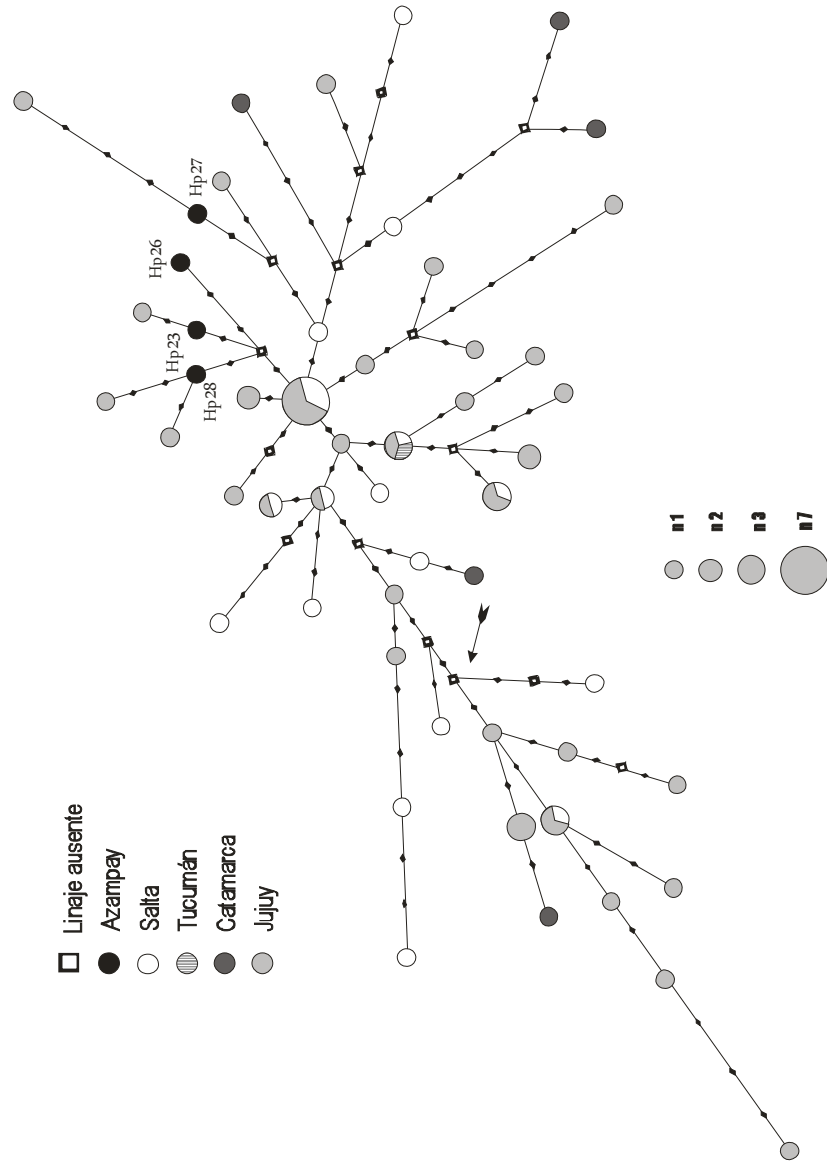


GRÁFICO 5 - Red haplotipos Q1a3a, 71 individuos

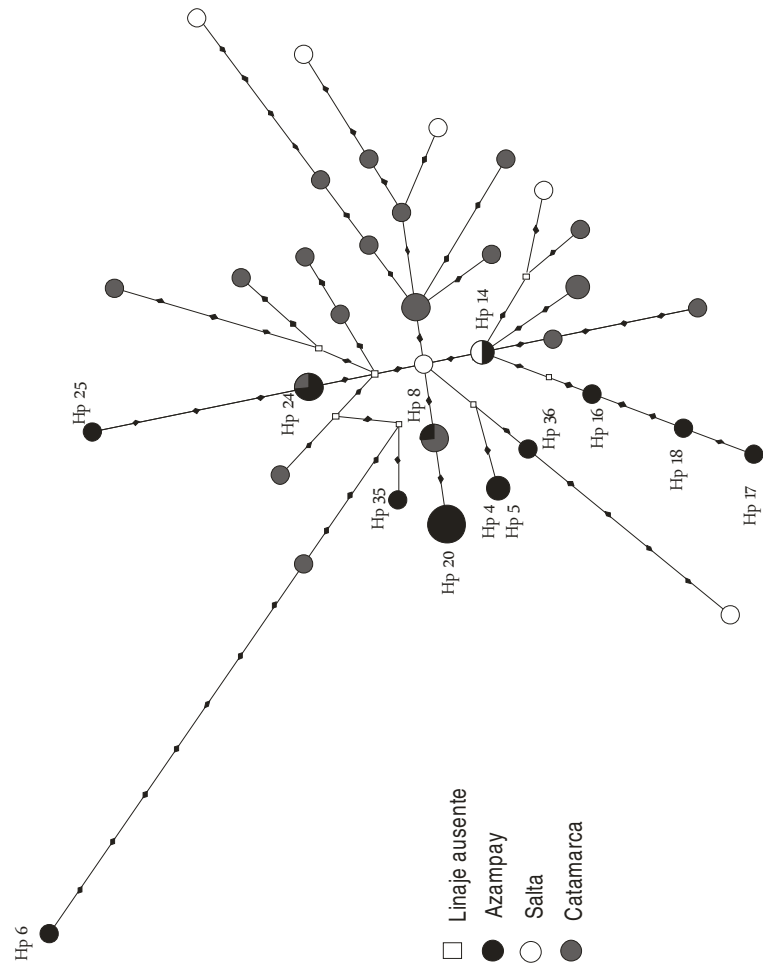
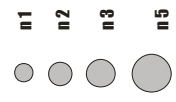


GRÁFICO 6 - Red haplotipos R1, 48 individuos

ADN MITOCONDRIAL

De todo el material biológico obtenido en los cuatro viajes a la comunidad, el genoma mitocondrial es el más representado, ya que los 126 habitantes de Azampay poseen varias copias de esta organela en cada una de sus células. Dadas las características comprobadas de su herencia uniparental por estricta vía materna, es también una información sobre la variabilidad que puede resultar altamente redundante. Toda la descendencia de una mujer porta las mismas mitocondrias que su abuela, contar entonces con las genealogías completas, nucleares y extensas, de todas las personas censadas, facilitó en enorme medida la selección de las muestras con las que trabajar. La relación madre-hijo se consideró en todos los casos como indubitada. Bastaría entonces con la secuenciación del ADN mitocondrial de una mujer por familia para conseguir toda la información deseada, pero fue necesario atender a una serie de particularidades:

- En la comunidad no se registraron adopciones, pero si la crianza de nietos por sus abuelos y en algunas familias no fue posible establecer si el menor es hijo de un hijo o de una hija, representa por tanto la probabilidad de más de un linaje mitocondrial en un mismo grupo doméstico
- Las genealogías permitieron conocer datos personales sobre los hombres y mujeres que integraban el núcleo fundador, pero no sobre sus antecesores. La posibilidad que estas personas compartieran en el pasado algún pariente femenino no podía descartarse en forma absoluta.
- Los apellidos se heredan por línea paterna solo si el progenitor masculino reconoce sus hijos en el Registro Civil, de lo contrario se registran con el nombre de la madre. Una mujer puede tener hijos y estos llevaran el mismo apellido que sus primos, hijos de un hermano varón. Se registraría en esta familia un solo apellido, pero existen dos linajes mitocondriales distintos.

Se secuenciaron entonces en las Regiones Hipervariables I y II de 29 muestras consideradas como representativas de la posible variabilidad presente en la comunidad.

HAPLOGRUPOS	<i>n</i>	HAPLOTIPOS
A2	10	4
B2	79	9
C1b	36	2
D1	1	1

En base a las mutaciones características, se asignaron los haplogrupos, se definieron los haplotipos y esta información se trasladó a todos los habitantes emparentados, resultando en un total de 16 linajes mitocondriales distintos. El haplogrupo B2 es el más representado y el que exhibe mayor diversidad, le siguen en importancia numérica C1b y A2, aunque es más diverso este último, en tanto solo un individuo resultó asignable al haplogrupo D1.

TABLA 11 - LINAJES FEMENINOS POR APELLIDO

Código de APELLIDO																	Total	<i>n</i>
LINAJE	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O			
1	-	-	-	-	-	●	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	5	
2	-	-	-	-	-	●	-	●	-	-	-	-	-	-	-	2	2	
3	-	-	-	●	-	-	-	-	●	-	-	-	-	-	-	2	2	
4	-	-	-	-	-	-	-	●	-	-	-	-	-	-	-	1	1	
5	-	-	-	-	-	-	●	-	-	-	-	-	-	-	●	2	3	
6	-	-	●	-	-	-	●	-	-	-	●	-	-	-	-	3	20	
7	-	-	-	●	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	
8	●	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2	
9	-	-	-	-	-	-	●	-	-	-	-	-	-	-	-	1	8	
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	●	-	-	-	-	-	1	1	
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	●	-	-	●	-	-	2	6	
12	●	●	●	●	-	●	●	-	●	-	-	-	-	-	-	7	34	
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	●	-	1	1	
14	●	●	-	-	●	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	10	
15	-	●	●	●	-	-	-	-	-	-	-	●	-	-	-	4	26	
16	-	-	-	●	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	
Total	3	3	3	5	1	3	4	2	2	2	1	1	1	1	1			
<i>n</i>	17	20	12	13	5	11	28	2	5	4	2	2	3	1	1		126	

TABLA 12 - LINAJES FEMENINOS

Linaje	Hg	Región Hipervariable I	Región Hipervariable II	
1	A2	16111 16189 16193+CC 16223 16290 16319 16362	064 073 146 153 235 263 309+C 315+C	522dd 663 15972
2	A2	16111 16183C 16189 16193+C //	064 073 143 146 153 235 263 315+C	522dd 663 15968
3	A2	16111 16223 16290 16319 16362 16519	064 073 146 153 155 235 263 309+C 315+C	522dd 663
4	A2	16111 16129 16172 16223 16265 16290 16319 16362 16519	064 073 146 153 199 235 263 309+C 315+C	522dd 663
5	B2	16077het? 16129 16183C 16189 16193+C 16217 16519	064 073 146 215 263 309+C 315+C	455+T 499
6	B2	16183C 16189 16193+C 16217 16519	064 073 146 215 263 309+CC 315+C	455+T 499
7	B2	16183C 16189 16193+C //	063 064 073 146 215 227 263 309+C 315+C	455+T 499
8	B2	16183C 16189 16193+C //	063 064 073 146 215 263 309+C 310 315+C //	
9	B2	16129 16183C 16189 16193+C 16217 16519	064 073 146 215 263 309+C 315+C	455+T 499
10	B2	16129 16183C 16189 16193+C 16223 16290 16319 16362	064 073 146 215 263 309+C 310 315+C //	
11	B2	16145 16156 16157 16183C 16189 16193+C 16217 16519	073 263 309+C 315+C	499
12	B2	16183C 16189 16193+C 16217 16519	063 064 073 146 215 263 309+CC 315+C	455+T 499
13	B2	16183C 16188 16189 16217 16354 16519	073 146 186 263 315+C	499
14	C1b	16093 16192 16223 16298 16325 16327	073 201 249d 263 290dd 309+C 315+C	489 493 522dd
15	C1b	16223 16298 16325 16327 16519	073 146 249d 263 290dd 309+C 315+C	489 493 522dd
16	D1	16036 16223 16325 16362 16384	073 150 263 309+C 315+C	489

En gris, linajes fundadores de Azampay

// Lecturas con errores más allá de RHV I -16193 y RHV II-315

dd Delección doble

Al relacionar cada linaje mitocondrial con los apellidos de sus portadores, 8 se constataron como comunes a más de un apellido, en tanto los 8 restantes resultaron únicos. Estos dos sistemas de herencia se transmiten en Azampay en forma independiente del sexo.

En todos los casos, se buscó identificar el nombre de la madre o abuela fundadora, trabajando en base a las entrevistas y las genealogías. Se reconocieron las cuatro líneas femeninas que formaron parte del núcleo fundador de Azampay (destacadas en gris), incluida aquella cuyo apellido no se encuentra hoy entre los pobladores. De los 16 linajes, 8 son susceptibles de desaparecer del registro, ya sea por estar representados solo por varones (6 casos) o por mujeres que solo tuvieron descendencia masculina (2 casos).

TABLA 13 - HAPLOGRUPOS MITOCONDRIALES POR LOCALIDAD

	AZAMPAY	CATAMARCA	SALTA	TUCUMÁN	JUJUY
A2	10 (7,9%)	20 (20%)	8 (12,3 %)	9 (12,5%)	8 (20%)
B2	79 (62,7%)	10 (10,1%)	25 (38,5%)	4 (5,5%)	17 (42,5%)
C1	36 (28,6%)	27 (27,3%)	20 (30,8%)	35 (48,6%)	9 (22,5%)
D1	1 (0,8%)	31 (31,3%)	8 (12,3%)	19 (26,4%)	5 (12,5%)
No Americanos	-	11 (11%)	8 (12,6%)	5 (6,9%)	1 (2,5%)
<i>n</i>	126	99	65	72	40

Se compararon las frecuencias de los distintos haplogrupos entre las localidades de Catamarca, Salta, Tucumán y Jujuy (Tamm y col, 2007; Santos y col, 2008; Motti y col, 2008 y Motti 2009, *inédito*). Los valores más altos se señalan en negrita y corresponden al haplogrupo B para Azampay, Salta y Jujuy, en San Fernando del Valle de Catamarca solo representa 10%, porcentaje que desciende a 5,5% en San Miguel del Tucumán. El componente extra americano es una fracción pequeña del total de las muestras en las ciudades capitales y está completamente ausente en Azampay.

TABLA 14- F_{ST} POR POBLACIÓN

	AZAMPAY	CATAMARCA	SALTA	TUCUMÁN	JUJUY
F_{ST}	0.12851	0.12439	0.12473	0.12596	0.12526

Se calculó el índice F_{ST} sobre frecuencias de haplogrupos. Los valores por población son muy similares en las cinco localidades consideradas, registrándose un pequeño incremento en Azampay.

TABLA 15 - ANÁLISIS DE LA VARIANZA MOLECULAR (AMOVA)

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	COMPONENTES DE LA VARIANZA	PORCENTAJE DE VARIACIÓN
Entre poblaciones	4	16,564	0,04843	12,61
Dentro de poblaciones	401	134,589	0,33563	87,39
TOTAL	405	151,153	0,38406	
ÍNDICE F_{ST}	0,12609			

Los resultados de AMOVA considerando todas las muestras como un único grupo mostraron un porcentaje de variación mayor al interior de las poblaciones que si se las compara entre ellas. Estos valores resultaron estadísticamente significativos con un $P = 0$.

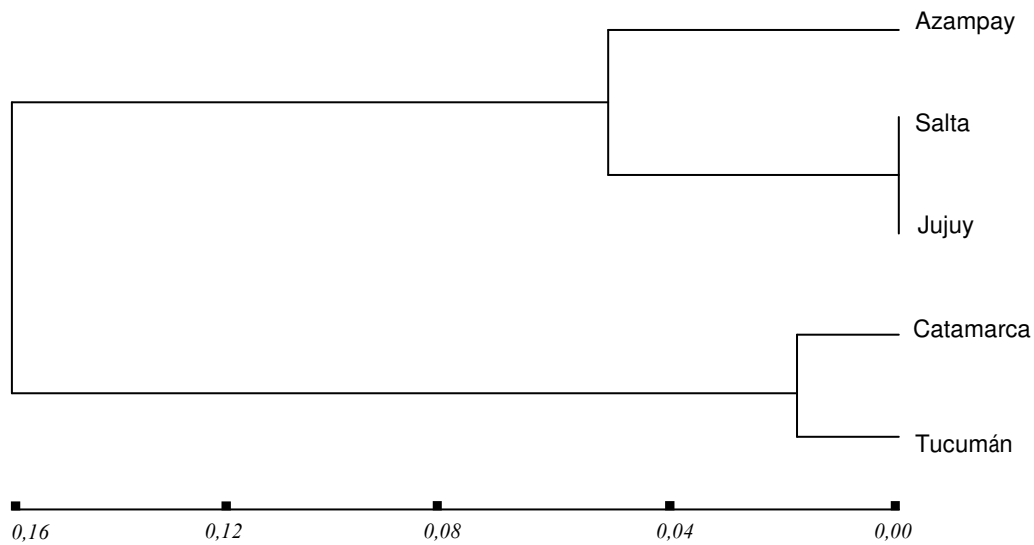
TABLA 16 - MATRIZ DE REYNOLDS DE DISTANCIAS GENÉTICAS (bajo la diagonal) Y PROBABILIDADES DE DIFERENCIACIÓN (sobre la diagonal) ENTRE POBLACIONES

	AZAMPAY	CATAMARCA	SALTA	TUCUMÁN	JUJUY
AZAMPAY	-	0.00000	0.00000	0.00000	0.02703
CATAMARCA	0.26629	-	0.00000	0.01802	0.00000
SALTA	0.06631	0.06089	-	0.00000	0.49550
TUCUMÁN	0.31313	0.02697	0.09089	-	0.00000
JUJUY	0.04651	0.07801	0	0.13666	-

Valores de $P < 0,05$ en negrita
Número de permutaciones=1000

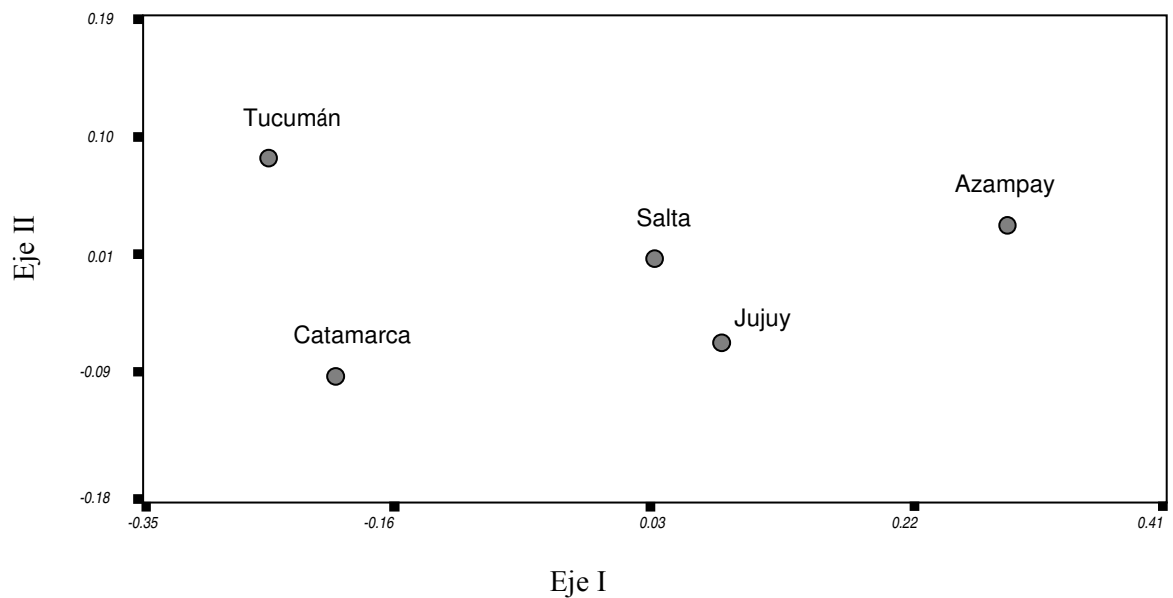
Si se computa el índice F_{ST} tomando las poblaciones de a pares, Azampay tiene las máximas distancias significativas con Tucumán, seguido de Catamarca, en tanto las menores se registran con Jujuy y Salta.

GRÁFICO 8 - ARBOL UPGMA



A partir de la matriz de Reynolds de distancias genéticas, se computó un árbol de clasificación filogenética. Se definieron dos agrupaciones: una que comprende Salta y Jujuy, siguiendo en inclusión Azampay y otra más divergente con Catamarca y Tucumán. El coeficiente de correlación cofenético fue $r = 0,63$, un valor sub-óptimo.

GRÁFICO 9 - COORDENADAS PRINCIPALES



En el Análisis de Coordenadas Principales, basado en la misma matriz de Reynolds, el Eje I acumuló el 95,4 % de variación. Azampay es la localidad que más diverge de Catamarca, agrupándose con Salta y Jujuy. El índice de bondad de ajuste fue $r = 0.97269$

Con el programa PASSaGE se compararon nuevamente las matrices de distancias genéticas y en kilómetros de una localidad a otra, a través del test de Mantel, resultando un índice de correlación negativo $r = -0,19$ y no significativo. A este nivel de análisis, no es posible asociar la distribución de la variabilidad de haplogrupos con el espacio geográfico ocupado.

GENEALOGÍAS

En la construcción de genealogías se establecieron dos niveles de relación: uno máximo o extenso, que incluye a todos los individuos relevados en las entrevistas como emparentados por algún tipo de nexo y otro mínimo o nuclear, que registra sólo a aquellas personas que pertenecen al mismo grupo doméstico (ver INTRODUCCIÓN). La articulación entre ambos niveles hizo posible conectar a las 126 personas censadas durante los viajes, en una sola imagen (GRÁFICO 7), con un total de 228 individuos incluyendo antepasados y descendientes. De ellas, 201 resultaron emparentadas, ya sea por vínculo sanguíneo o político, al denominado núcleo fundador

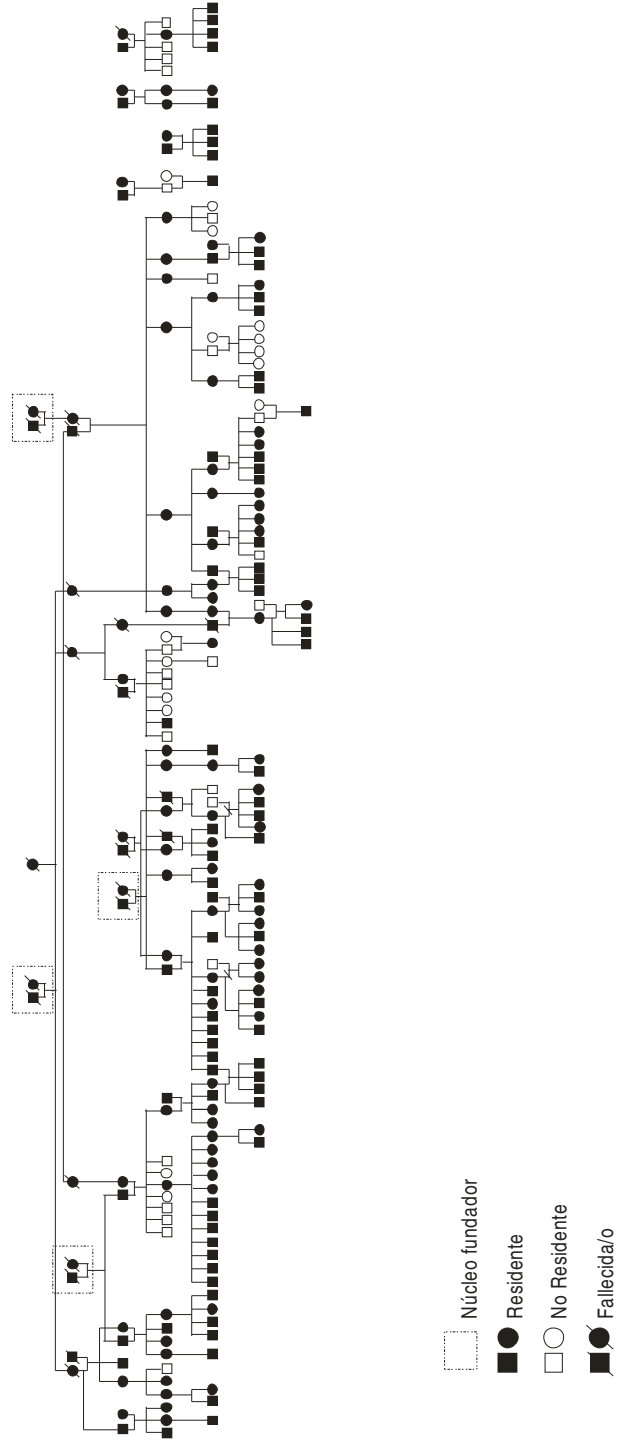


GRÁFICO 7 - Genealogía extensa Azampay, 228 individuos

Discusión

Un linaje familiar puede definirse a partir de una característica común y heredable, como los apellidos. Estos rasgos culturales, que se transmiten a través de un mecanismo vertical (patri y/o matrilinealmente) comparable a la transmisión genética, resultan un potencial recurso en el análisis de la diversidad humana. (Bedoya y col, 2006). Partiendo del total de nombres registrados, la variabilidad en Azampay es baja, lo que resultaría hasta cierto punto coherente con la poca cantidad de personas que allí habitan. No se distribuyen entre la población en forma homogénea (ver RESULTADOS - GRÁFICO 1), algunos están representados por hasta 28 individuos mientras que otros sólo cuentan con un portador. Estas disimilitudes numéricas podrían esperarse en el caso de los apellidos exclusivamente femeninos, según el sistema de registro vigente en nuestro país hasta el año 2008, los hijos de una pareja recibían el apellido paterno y el materno se perdía. Este linaje puede no desaparecer si la mujer tiene hermanos varones y éstos a su vez, descendencia reconocida. De darse siempre este sistema de herencia, en cada generación existe uno (el apellido materno) y hasta dos linajes que se pierden (en el caso de una mujer sin hermanos o sin sobrinos). Los censos pueden ser la última ocasión de registrarlos. Esta explicación puede aplicarse al caso - 59 - de Azampay sólo en forma parcial, si bien se dan aquí 4 casos de apellidos exclusivamente femeninos, éstos comprenden a 7 mujeres y algunas comparten un vínculo filial. Como ya se expuso en INTRODUCCIÓN, la pauta de registro nominal en Azampay es diferente y podría clasificarse como informal, los grupos domésticos pueden estar integrados solo por la madre y sus hijos y nietos. En la comunidad no se sanciona ni pesa ningún juicio de valor sobre este tipo de estructura familiar, las mujeres pueden no formar una unión de pareja estable y tampoco renuncian a la maternidad. Muchos de los linajes tienen en su origen sólo una abuela, cuyo apellido heredó toda su progenie, tanto femenina como masculina y sus probabilidades de transmisión a los nietos dependerá de la elección conyugal de los hijos, pero no será prohibitivo en ningún caso. Los varones pueden tener descendencia y no asentarla con su nombre y las mujeres pueden tener hijos en independencia de un vínculo de pareja.

En base a la documentación, esta comunidad tiene un siglo de existencia (Zubrzycki, 2008), los linajes locales identificados serían casi tan antiguos como el pueblo: 7 de los 15 apellidos actuales ya estaban presentes en las 8 personas que lo fundaron. Es importante

destacar que los únicos apellidos heredados a la primera generación de azampeños fueron los paternos. A partir de este punto, se perdieron los 4 nombres maternos y pudieron integrarse nuevos apellidos a la comunidad, por establecer allí su residencia los cónyuges de cada nueva pareja. Entre éstos, se vuelven a presentar 3 de los 4 apellidos femeninos del núcleo fundador, parte de los 15 que se encuentran entre los residentes hoy. Si bien no existen datos precisos sobre el origen de estos linajes alóctonos, las pocas referencias en las entrevistas sugieren una procedencia zonal, dentro de los límites provinciales. En el estado actual de conocimiento, no se puede descartar la posibilidad de algún vínculo de parentesco entre aquellos nuevos habitantes, parejas de la primera generación local y las familias de las madres fundadoras. Esta fue una de las razones que fundamentaron el criterio de selección de muestras, para la secuenciación de la Región Control del genoma mitocondrial.

Por otra parte, tampoco puede descartarse absolutamente la simple recurrencia nominal. En el año 2005, Dipierri y colaboradores publicaron un estudio sobre la estructura poblacional y el patrón de migración reciente en el Noroeste argentino, considerando Salta, Jujuy, Tucumán, La Rioja, Catamarca y Santiago del Estero, utilizando apellidos como elemento analítico. Su fuente de datos fue el padrón electoral nacional del año 2001, que comprendía 2.576.548 individuos para el NOA y 178.659 asentados en Catamarca, distribuidos diferencialmente entre sus 16 departamentos. Si bien este registro es parcial, porque sólo considera a las personas mayores de 18 años, es numéricamente importante, incluye individuos de ambos sexos y puede considerarse como una muestra representativa del total poblacional. El padrón catamarqueño comprendía en ese momento 6370 apellidos diferentes, entre los que se encuentran los 15 de Azampay, con las siguientes frecuencias: Aibar (0,14%), Campos (0,14%), Cardoso (0,17%), Casimiro (0,13%), Coria (0,04%), González (1%), Marcial (0,30%), Morales (0,63%), Moreno (0,91%), Ochoa (0,19%), Ortiz (0,33%), Pachado (0,16%), Titos (0,07%), Aballay (0,07%) y Cruz (0,46%). No es posible reconstruir la historia particular de cada linaje a lo largo del siglo, pero no desapareció (por migración o por fallecimiento sin descendencia de los últimos individuos portadores) ninguno de ellos del registro provincial y se advierte cierto regionalismo en su distribución. Por ejemplo: Ortiz es uno de los apellidos femeninos que se pierden, pero vuelve a introducirse por migración. En el padrón electoral de 2001, para el departamento Belén, al que pertenece Azampay, este apellido tiene una frecuencia de 0,86%. En el departamento Santa María, con el que limita exactamente al este, la frecuencia cae a 0,02%.

Si bien la construcción del pasado es un proceso complejo, individual y colectivo, es posible que la memoria oral de los azampeños sobre la procedencia de sus antecesores, sea testimonio de eventos históricos reales. Como ya se expuso, 14 apellidos son foráneos

(incluyendo al denominado devocional) y uno autóctono. Los nombres extranjeros se imponían por bautismo y pueden resultar comunes a linajes no emparentados por descendencia. En esta porción de Catamarca, algunos pueden haber sido más frecuentes que otros, dando en los primeros años de Azampay dos familias con el mismo apellido sin lazos de parentesco.

Otro abordaje a la diversidad a partir de este marcador cultural heredable, es su correlación con la herencia del cromosoma Y, de padres a hijos varones (Manrubia y col, 2003; Zei y col, 2003; Bodwen y col, 2007). En ocasiones, los mismos fonemas que se transformaron en apellidos pueden aportar información sobre su origen lingüístico y su posible nacionalidad, del mismo modo que resultan informativos los haplogrupos para estudiar la procedencia geográfica de un linaje. Se parte del supuesto que, desde su implementación en Europa durante la Edad Media, los apellidos se mantuvieron asociados a determinados haplotipos a lo largo de muchas generaciones, dos varones que compartan el nombre tendrían más probabilidades de compartir efectivamente un antepasado por línea masculina, que si tuviesen apellidos diferentes. Pero, estos dos sistemas demostraron no siempre ajustarse, ya sea por ilegitimidad del vínculo o adopciones (Sykes e Irven, 2000; Jobling, 2001; King y col, 2006; McEvoy y Bradley, 2006; King y Jobling, 2009). En América los apellidos se utilizan desde hace cinco siglos, muchos de los nombres introducidos tienen sus homólogos fuera del continente, pudiendo considerarlos entonces como polifiléticos. En el caso de Azampay, de los 10 apellidos con portadores masculinos, sólo 3 resultaron ser monofiléticos (RESULTADOS – TABLA 2) y en 2 de ellos es una condición obligada, están representados sólo por una persona. De resultar una completa correlación entre apellidos y cromosoma Y, se esperarían 44 linajes diferentes, los necesarios para designar a cada uno de los haplotipos identificados. Esta pluralidad biológica, enmascarada bajo una nominal mucho menor, puede asociarse a sucesos como paternidades no asignadas o adopciones, tal como se refiere en la bibliografía citada. Pero sobre todo debe considerarse la norma informal en el registro del apellido en Azampay, con un alto índice de transmisión a través del progenitor femenino. En Aicuña, una localidad rural de La Rioja, Bailliet y colaboradores (2001) también describen disimilitudes entre apellidos y linajes moleculares masculinos, como consecuencia de infrecuentes pautas de herencia en el pasado de la comunidad. Los estudios sobre parentesco en Azampay (Maffia y col, 2004) y los resultados presentados en esta tesis, refieren una situación similar, pero contemporánea, sostenida a lo largo del tiempo. En nuestro continente, dada su historia, los apellidos pueden resultar marcadores informativos, pero su empleo debe realizarse con cautela (Gómez, Ávila, Briceño, 2008).

En la TABLA 3 de RESULTADOS, se expusieron los haplogrupos de cromosoma Y y sus respectivas frecuencias para cada población analizada, describen los componentes de cada muestra y su posible origen geográfico. El subhaplogrupo Q1a3a es un linaje masculino nativo, su distribución se encuentra exclusivamente restringida a América y a las áreas próximas a Beringia en Asia (Lell y col, 1997, 2002). Está altamente representado en Jujuy (65%), siguiendo en importancia Salta (44%) y decae en las otras localidades en forma notable. Si bien en una primera comparación a nivel de haplogrupos, se registra una diversidad coherente para este conjunto de muestras del NOA, la distribución tan polarizada entre linajes autóctonos y extra continentales diferencia claramente a Jujuy y Salta del resto. Puede ser efecto de un posible sesgo de muestreo o deberse a características histórico-poblacionales en el conjunto mayor de estos dos centros urbanos y su área de influencia. Al momento de la conquista española, la distribución de habitantes en el continente era desigual, las más altas densidades se registraron en Mesoamérica y los Andes centrales, organizadas en complejas urbes y sostenidas gracias al desarrollo agrícola y comercial a gran escala (Bonavia, 1991). Luego del contacto inicial, la expansión extranjera y la instalación colonial ocasionan un verdadero derrumbe demográfico de la población autóctona. Las causas fueron múltiples, además de los enfrentamientos armados, deben considerarse los brotes epidémicos, las hambrunas generalizadas y las empobrecidas condiciones de vida (Palermo, 2000). Desde las primeras décadas, este nuevo reino de ultramar recibió contingentes de emigrantes, compuesto por población europea, después por esclavos desde África y durante la conquista de Las Filipinas, entre 1580 y 1597, se incorporó también población asiática (Sánchez-Albornoz, 1990). Durante el siglo XVI, la Corona intentó establecer políticas migratorias que fomentaran el traslado de mujeres y familias en forma más importante que hasta el momento, a fin de desarrollar en la colonia una población española estable. Pero esta política no tuvo éxito, los hombres siguieron siendo mayoría entre los migrantes, que formaban unión con mujeres americanas y se estableció una primera generación de mestizos que gozaban de los mismos privilegios que sus padres como ciudadanos europeos. Así, entre los siglos XVII y XVIII, la nueva población de Indias estará formada por un porcentaje muy alto de origen híbrido. El tronco principal de la estructura demográfica lo formaban los amerindios, que aún representaban hasta el 45% de la población total del continente (Sánchez-Albornoz, *op cit*), aunque no alcanzarían nunca la densidad demográfica de tiempos prehispánicos. A este porcentaje debería añadirse la población mestiza, que también incluía su componente amerindio a través de uno u otro de los progenitores.

Entre los varones de las localidades de Azampay, Catamarca y Tucumán, el haplogrupo Q1a3a tiene una frecuencia promedio del 11%. Estas muestras comprenden establecimientos

tanto urbanos como rurales, fueron tomadas bajo el mismo criterio que en Salta y Jujuy e incluso en Azampay abarca a la población total, sin embargo, la representación de linajes masculinos autóctonos varía considerablemente. A modo de ejemplo, puede citarse el trabajo de García y colaboradores (2008), quienes también emplearon marcadores binarios para identificar haplogrupos en la región Centro de Argentina. En un total de 109 varones de distintas localidades de Córdoba y San Luis, sólo el 7,3% presentó el estado derivado para la mutación M3. En un estudio mayor, Wang y colaboradores (2008) analizan 249 individuos de 13 ciudades latinoamericanas, empleando marcadores autosómicos y microsatélites del cromosoma X. Encuentran que la fracción poblacional con ancestría amerindia también presenta frecuencias muy variables, tanto sea por herencia materna o paterna o por región geográfica considerada. Dados los contrastantes patrones de deriva y flujo génico, Tarazona-Santos y su equipo (2001) propusieron considerar dos grandes grupos cuando se analizan las poblaciones nativas sudamericanas: el área este (Amazonia y Gran Chaco) y la oeste (región andina), donde la población exhibe tamaños efectivos mayores y niveles de flujo génico elevados. Con los datos presentados aquí y sobre un análisis a nivel de haplogrupo, puede proponerse incluso diferencias en ese patrón dentro de la misma región andina. Las actuales fronteras políticas no necesariamente definen un espacio geográfico, la población asentada en las provincias de Jujuy y Salta puede estar más relacionada con la de países limítrofes que con la de otras provincias.

La distribución también resulta consistente con las ya aludidas diferencias en la ocupación pre-colonial: las ciudades con mayor porcentaje de componente amerindio se encuentran en regiones que históricamente contaban con mayor densidad poblacional. La discrepancia con las otras localidades estudiadas puede deberse a características de la migración actual. Estos aglomerados urbanos son polos económicos, que atraen a población de zonas aledañas y se expanden a través de una migración regional más que por un crecimiento interno y sostenido (Wang, *op cit*) Este desarrollo puede comprender, entre ciudades de la misma región Noroeste, componentes de diferente origen.

En Catamarca, Tucumán y Azampay, los haplogrupos con frecuencias más altas son R (M207 derivado), R1 (M173 derivado), seguidos en Tucumán del paragrupo F (M89 derivado). También se registran en Salta y San Salvador de Jujuy, aunque en menor proporción (entre 20% y 30% del total). La distribución y variabilidad del cromosoma Y tiene un alto grado de diferenciación geográfica, lo que lo hace un buen indicador de migraciones y mestizajes tempranos (Rosser y col, 2000). Con los marcadores empleados en este trabajo, el grado de resolución no es absoluto, pero todos son informativos acerca del origen de los componentes masculinos actuales de estas poblaciones y permiten definir dos grandes grupos: los linajes

nativos americanos por un lado y todos los autóctonos por otro, mucho más diversos. Para Azampay, los porcentajes resultaron 12,3% y 87,7%, respectivamente. Dentro de esa porción extranjera se cuenta el haplogrupo F (M89 derivado), un cluster no-africano, que contiene a todos los grupos restantes (Underhill y Kivisild, 2007). En el este de Asia, especialmente en la península Arábiga (Wells y col, 2001) se registran frecuencias elevadas de linajes F. Por otro lado, R y R1 son haplogrupos característicos de Europa y la región occidental de Eurasia, presentando una distribución de sus sub-haplogrupos en forma clinal, con sentido este-oeste (Balanovsky y col, 2008). Los estudios sobre profundidad temporal han postulado que la mutación M173 está establecida en el Viejo Mundo desde hace 30.000 años (Semino y col, 2000; Karafet y col, 1999) y su presencia en Europa se asocia a una expansión demográfica desde Asia (Cruciani y col, 2002). Finalmente, en sólo una muestra pudo identificarse el inserto Alu (YAP), característica ancestral común a los haplogrupos D y E. Esta mutación se produjo muy posiblemente en África, resultando índice de una temprana colonización de Asia (Underhill, 2004) y con una distribución actual tanto sub-sahariana como en el este asiático y la cuenca del Mediterráneo. En síntesis, para los 55 linajes analizados en Azampay, 48 tuvieron un origen extra-continental y su presencia en la comunidad hoy es resultado de migraciones. En la historia de Argentina, este fenómeno cobró dimensiones masivas durante los siglos XIX y XX.

Desde el comienzo del proceso independentista, la clase dirigente tuvo conciencia de la necesidad que se planteaba, en términos económicos, de producir un veloz y radical aumento de la densidad poblacional del país. Una vez organizado constitucionalmente, en 1853, comenzó una labor de propaganda destinada a la población europea (Longo, 2003). La política inmigratoria se orientaba a poblar el campo, desarrollar la economía rural y afianzar así las fronteras nacionales, especialmente después de 1880 y la culminación de la llamada Conquista del Desierto. El proyecto de nación incluía el civilizar a la población a través de las instituciones y la educación, pero no sería posible de desarrollar en un territorio semi-vacío o que aún contuviese ciudadanos sobre los que la empresa se consideraba inútil. La inmigración, entonces era condición previa de la civilización:

"Se hace este argumento: Educando nuestras masas tendremos orden; teniendo orden, vendrá la población de fuera. Os diré que invertís el verdadero método de progreso. No tendréis orden, ni educación popular, sino por el influjo de masas introducidas con hábitos arraigados de ese orden y buena educación" (Alberdi, 1852).

El atraer contingentes de migrantes europeos se impuso como instrumento fundamental para construir una nación orientada al desarrollo (Quijada, 2003). Desde mediados del siglo XIX hasta comienzos de la Segunda Guerra Mundial, Argentina, junto con Estados Unidos, Canadá, Antillas, Australia y Brasil se convirtió en uno de los seis principales países receptores. Fue el segundo en términos de cantidad absoluta de inmigrantes recibidos y en el que tuvo mayor impacto numérico, dada su demografía original. En el censo nacional de 1914 se registró que el 30% de la población total del país había nacido en el exterior (Lattes, 1987), fundamentalmente en Italia y España y en menor medida en Polonia, Alemania, Rusia y Suiza. Se produjo un desequilibrio entre sexos en el rango etario entre 20 a 35 años, ya que la mayoría de los inmigrantes eran hombres jóvenes. Instalado el modelo económico agro-exportador, se da un gran crecimiento urbano y una concentración de población en el área pampeana, fundamentalmente en Capital Federal, Buenos Aires y Santa Fe, mientras que el resto del país fue ocupado de manera diferencial.

Para el caso particular de Catamarca, el primer Censo Nacional de 1869 contabiliza 67 extranjeros, residentes en la Capital y en Valle Viejo, Fray Mamerto Esquiú, Belén, Santa María, Tinogasta y Andalgalá. Transcurridos casi treinta años, en el Censo de 1895 la suma asciende a más de medio millar de inmigrantes (Trettel de Varela, 1998). Dentro de este total, los inmigrantes asiáticos figuran en el tercer lugar, después de italianos y españoles. A fines del siglo XIX, el principal país expulsor era El Líbano, seguido de Siria, además de Israel, Turquía y Armenia (De Lucas, 2003). Hasta fines de la Primera Guerra Mundial formaban parte del Imperio Otomano y a muchos inmigrantes de Oriente Medio se los designaban en forma general como turcos. Fueron el grupo extranjero con distribución más uniforme, por lo que alcanzaron frecuencias importantes en el noroeste, donde no tendía a instalarse la migración europea (Abdelwahed, 2000).

En la actualidad, ningún habitante de Azampay relaciona su historia familiar con un evento migratorio desde otro continente. La memoria oral recupera sucesos hasta dos o tres generaciones atrás, los desplazamientos y cambios de residencia evocados se dan en un circuito que involucra sólo a algunas provincias del NOA. La información obtenida en las entrevistas es susceptible de mutar por diversas causas –olvido, omisión o desconocimiento de algunos hechos, selección consciente o inconsciente de lo narrado según la imagen personal que se desea proyectar – pero también constituye una fuente de gran valor. Los pobladores se consideran a sí mismos como criollos, empleando este término como sinónimo de lugareño (Tobisch y Salceda, 1998) y en los casos en que aún se recuerda el dato, el origen de las familias se señala en otras localidades de altura, dentro de la misma provincia catamarqueña.

Estas referencias retroceden casi hasta la época señalada como fundacional para Azampay, a principios del siglo XX. Ya se ha señalado la baja diversidad de apellidos, evidente incluso desde la perspectiva histórica que permite la técnica genealógica. Entre los 55 varones analizados, se identifican 5 haplogrupos, pero para considerar adecuadamente su diversidad, se combinó esa información con los datos sobre microsatélites. En la TABLA 4 de RESULTADOS se presentan los 44 linajes definidos para la localidad y su comparación con los 167 definidos para San Salvador de Jujuy, San Miguel del Tucumán, Salta y San Fernando del Valle de Catamarca. Las mayores coincidencias se registraron con estos últimos, con dos casos de linajes compartidos y dos homoplasias, en las que la identidad se da sólo entre haplotipos, englobando haplogrupos distintos.

La similitud entre Azampay y San Fernando del Valle de Catamarca vuelve a verificarse cuando se comparan las frecuencias alélicas (ver ANEXO – TABLA 2), ambas poblaciones comparten los mismos alelos modales en seis de los siete microsatélites. Resulta destacable el caso del alelo 11 del locus DYS 391, modal en Catamarca y Azampay, pero que en el resto del NOA no presenta frecuencias muy importantes. Este sistema es uno de los que tienen tasas mutacionales más bajas. Si se considera que la ocupación efectiva de Azampay data de un siglo atrás, es posible que su población esté histórica y biológicamente más relacionada con aquella de la misma provincia que con la de otras localidades consideradas.

Los distintos índices de diversidad calculados se reúnen en RESULTADOS - TABLA 4. Además de su valor descriptivo, facilitan una comparación general y permiten inferir consecuencias debido a las variaciones en el tamaño efectivo poblacional. La diversidad haplotípica resultó igual a 1 en todos los casos, dándose en Tucumán un desvío estándar mayor. Siguiendo a González-Andrade y colaboradores (2006), es importante destacar que en sistemas haploides como el ADN mitocondrial y el cromosoma Y, este parámetro es equivalente a los parámetros forenses de información a priori, como el poder de discriminación o de exclusión en los casos de filiación. La diversidad haplotípica se definió como la probabilidad de que dos linajes seleccionados al azar sean diferentes entre sí y los valores obtenidos señalan esa probabilidad como total. El conjunto de 7 loci de microsatélites empleados, combinado con los datos de marcadores binarios, tiene el poder de discriminar correctamente individuos varones no relacionados en todas las poblaciones, pero no resultan todas igual de heterogéneas, al menos no en la cantidad de alelos registrados. El índice de diversidad génica promedio para Azampay es el más bajo. Como se calcula considerando todos los alelos para cada locus, este valor final puede reflejar tanto las diferentes tasas mutacionales de cada uno como la pérdida de alelos por reducción del número efectivo. La cantidad de linajes en Azampay ($n=44$) es muy similar a la

de Salta ($n=41$) y un poco inferior a la de Catamarca o Jujuy, pero a diferencia de esas ciudades, los 44 haplotipos analizados son la totalidad del universo masculino en una población cuya densidad demográfica no es en absoluto equiparable al resto. En estas circunstancias, su promedio de baja diversidad génica resulta coherente, Azampay tiene el segundo rango alélico más bajo. Este valor está directamente relacionado con el índice Garza-Williamson, que es igual a 1 o presenta valores muy cercanos a la unidad, tal lo esperado para poblaciones estacionarias, salvo en el caso de Tucumán. Puede considerarse como un efecto producto del muestreo.

En GRÁFICO 2 se presenta el resultado del análisis de distribución mismatch. Para llegar a ese histograma, se computaron las frecuencias en cantidad de diferencias de nucleótidos para cada alelo, comparando los haplotipos de a pares. Una distribución unimodal, con un gráfico en forma de campana, se considera característico de una población que ha atravesado un periodo importante de expansión demográfica (Aris-Brosou y Excoffier, 1996; Basu y col, 2003). Las mutaciones que se hayan producido a lo largo del tiempo desde que se inició el crecimiento, serán específicas de cada linaje, la magnitud de las diferencias entre linajes tenderán a acumularse alrededor de un valor modal (Pereira y col, 2001). En este tipo de estudio se asume que la muestra es representativa, una condición que podía resultar problemática en el caso de Azampay. Aunque los 44 haplotipos (detallados en TABLA 4) son la totalidad de linajes masculinos presentes, la localidad completa, no son todos asignables a los mismos haplogrupos. Los polimorfismos a este nivel se consideran como eventos únicos, con un ritmo evolutivo diferente del de los microsatélites. Incluir linajes indiscriminadamente en una misma matriz, podría conducir a una apreciación equivocada de la dinámica poblacional. Lo mismo se aplica a las homoplasias encontradas (TABLA 4), si no se hubiesen considerado los marcadores binarios, se podría haber caído en el error de proponer para dos muestras una historia común, cuando sólo existe una similitud de estado. Entonces, siguiendo a Lewis y colaboradores (2004), para el análisis de distribución mismatch los haplogrupos se consideraron separadamente, a fin de no obtener un patrón falso de diferencias. En Azampay se definieron 17 linajes del sub-haplogrupo R1, que se compararon de a pares y resultó en una distribución bimodal, con una gráfica irregular. Estas curvas quebradas se observan en poblaciones de tamaño estable, con heterogeneidad de haplotipos (Tofanelli y col, 2009). Anteriormente se destacó que Azampay es la localidad con la menor diversidad génica promedio (TABLA 5). Este resultado puede parecer incoherente con la idea de heterogeneidad, pero en el cálculo de diversidad se consideraron todos los linajes masculinos y aquí se toman solo los R1, que presentan una historia evolutiva con alelos bien diferenciados. Azampay es una población en equilibrio, con una baja cantidad de habitantes y a la vez registra una tasa global de fecundidad (5,3 hijos por mujer) más alta que la

promedio para la provincia (3,2 en Catamarca, INDEC 2001). Dado que su densidad demográfica no se modifica, resulta evidente que su estabilidad no se resuelve en forma interna. Como se discutirá más adelante, uno de los mecanismos más significativos en el mantenimiento del tamaño constante de la población es su inclusión en un circuito más amplio de migraciones.

En las comunidades humanas no existe panmixia. Las elecciones dentro un conjunto de potenciales parejas responden a un patrón definido de preferencias, a partir de un conjunto particular de valores, variando las oportunidades, la libertad y el tamaño del universo sobre el que esas elecciones pueden hacerse. Dado que la diversidad de una población puede estructurarse potencialmente si en su desarrollo histórico se conforman subpoblaciones, el índice RST puede medir la distribución de la diversidad entre los diferentes niveles jerárquicos. En RESULTADOS - TABLA 6 se presentan los valores obtenidos para cada una de las localidades, correspondiendo a Azampay un valor de $RST=0,18638$, lo que significa que el 18,6% del total de variación en las frecuencias alélicas se da entre subpoblaciones, con el corolario que el 81,4% restante se da dentro de las mismas. Un valor igual se obtuvo para Jujuy y los demás no divergen en ningún caso a más de un punto. En humanos, a diferencia de otras poblaciones de mamíferos, las mayores proporciones de diversidad se dan dentro de cada subpoblación (Jobling y col, 2004, Lewis y col, 2004), una característica que se observa incluso a nivel mundial (Kayser, 2001). Ahora bien, si los procesos de deriva génica se traducen como subpoblaciones altamente diferenciadas, esta proporción aumentará, mientras que si el flujo génico entre ellas mantuvo su similaridad, esta proporción será menor y los índices se aproximarán a cero. Los resultados para las cinco localidades analizadas resultan homogéneos, no se registran valores tan bajos como para suponer un flujo génico elevado, pero tampoco como para considerar a cada una como una entidad independiente.

En el cálculo de AMOVA (RESULTADOS - TABLA 7) se consideraron todas las poblaciones como un mismo conjunto, a fin de entender de qué modo se distribuye la variabilidad a este nivel. El mayor porcentaje de variación se dio dentro de cada localidad (81,84%), mientras que las divergencias entre ellas no fueron elevadas (18,16%). Para este cómputo se usaron frecuencias haplotípicas, que permiten visualizar diferencias entre poblaciones al presentar los microsatélites mayores tasas mutacionales (Kharkov y col, 2008). Los valores finales fueron estadísticamente significativos, descartando la posibilidad de que se deban a un ordenamiento arbitrario. Azampay es la única localidad rural, mientras todas las muestras restantes provienen de ciudades con una dinámica poblacional mucho más compleja. Si sus diferencias en este nivel fuesen tan acusadas, el reunir las en un mismo grupo hubiese modificado los porcentajes, incrementando la variabilidad entre grupos. Azampay permanece en cierto grado de aislamiento

dada su ubicación geográfica, las características de su entorno y las dificultades en el transporte, pero no está aislada poblacionalmente.

En la TABLA 8 se presentan las distancias genéticas apareadas, basadas en los índices RST obtenidos. Las comparaciones se establecieron entre todas las localidades, resultando la menor distancia para Azampay con Catamarca (0,08), un valor estadísticamente significativo que se ajusta a la propuesta de mayor afinidad entre ambas poblaciones, también sostenido en los registros orales de los informantes. Si además se consideran los antecedentes históricos sobre la génesis de Azampay y que presenta la mayor cantidad de linajes (haplogrupos y haplotipos, TABLA 4) compartidos con Catamarca, los resultados obtenidos podrían estar reflejando una relación ancestral con componentes de la misma provincia y una incorporación menor de población foránea. En el mismo sentido apuntan los datos de la matriz de valores M (RESULTADOS - TABLA 9). Calculada sobre frecuencias de microsatélites, Azampay intercambiaría 5,41 varones por generación con San Fernando del Valle de Catamarca y 4,36 con Salta, valores relevantes en una comunidad con tan baja densidad demográfica, ya que supondría que 5 varones se trasladan a Catamarca al tiempo que otros 5 se instalan en Azampay. Debe notarse que se han incluido sólo datos del cromosoma Y, representando una fracción de la población total. Se asume que, entre una generación y la siguiente, transcurren 25 años en promedio (Underhill y col, 1996; Kayser y col, 2000; Cruciani y col, 2002; Bedoya y col, 2006). Considerando el siglo que ha pasado desde la ocupación de los campos comuneros hasta el Azampay actual, se esperaría un mínimo de cuatro generaciones. Sin embargo, tal como se presenta en RESULTADOS – GRÁFICO 7, desde la instalación del núcleo fundador hasta el presente, pueden contarse siete generaciones en total, lo que reduce el lapso de tiempo entre una y otra a 14 años. Si se aborda a los azampeños hoy ¿quiénes representan esa fracción de migrantes? En el pueblo, son pocos los casos registrados de personas nacidas en otra localidad que se instalaron en forma definitiva y generalmente lo hicieron por establecer una relación de pareja con algún local. Estos valores son acusadamente dispares si se los compara con la notable tasa de fecundidad. Ya se ha señalado que la familia en Azampay es de tipo informal, donde los grupos domésticos pueden estar integrados sólo por una mujer y todos sus hijos, los que tienen diferentes progenitores que no siempre residen en la comunidad. En este contexto, un nacimiento puede considerarse como el establecimiento de un migrante.

En el árbol de clasificación filogenética obtenido a partir de la matriz de distancias RST, las poblaciones que forman un agrupamiento concreto son Catamarca y Salta, con Azampay ubicado a muy poca distancia. La muestra de Jujuy es, de las cinco localidades consideradas, la que se ubica a mayor distancia. Entre los posibles métodos jerárquicos de agrupamiento, se

discute la aplicación de árboles filogenéticos, aunque su fiabilidad en la reconstrucción de relaciones evolutivas esté bien establecida (Seielstad y col, 1999). En el caso analizado de las cinco poblaciones, la resolución del árbol concuerda con comparaciones anteriores en base a otros índices, aunque debe destacarse que su coeficiente de correlación no es óptimo ($r = 0,85$). El análisis de Coordenadas Principales registra la misma tendencia: Azampay, Catamarca y Salta nuevamente se agrupan en un extremo, lo que podría sugerir una mayor relación histórico poblacional entre ellas, mientras Jujuy es la muestra que más se aparta.

Comparando en un test de Mantel la matriz de valores RST para las cinco poblaciones en relación a las distancias geográficas entre ellas, no se detectó ninguna asociación significativa. Al computarse a partir de las coordenadas expresadas en grados de latitud y longitud, las mayores dimensiones no exceden los 500 kilómetros lineales y no consideran las particularidades del relieve en la región. De existir alguna característica geográfica, puede operar tanto como barrera al desplazamiento poblacional o como vía que lo facilite y no sería detectada a través de esta metodología. También debe destacarse que las comunidades humanas se desarrollan frecuentemente en independencia a las peculiaridades del escenario que ocupan y la distribución de su diversidad puede responder a múltiples factores. Basu y colaboradores (2003) analizaron marcadores autosómicos y uniparentales en muestras de distintas castas en 44 poblaciones con diferentes idiomas y emplazamientos en India, sin encontrar que la gran variabilidad genética tenga relación con la distribución espacial de las localidades. En un estudio similar, con marcadores uniparentales en 6 poblados del norte de Tailandia, Besaggio y colaboradores (2007) concluyen que la diversidad está más asociada a las diferencias lingüísticas y a las pautas matrimoniales que a las distancias geográficas. En el caso contemplado en esta tesis, sin darse rasgos culturales tales, los individuos mantienen un circuito de migraciones que culmina en grados variables de diferenciación genética y no estaría asociado a las distancias en kilómetros.

Como se especificó anteriormente, las redes median-joining se calcularon sólo con aquellos haplotipos que compartiesen el mismo haplogrupo. La red Q1a3a (GRÁFICO 3) reúne 71 individuos de las cinco poblaciones estudiadas, incluyendo mayormente muestras de San Salvador de Jujuy, la localidad en la que presentó frecuencias más altas. El haplotipo más representando incluye 7 individuos de Jujuy y Salta, se distancia a un sólo paso mutacional del considerado modal en amerindios y propuesto como uno de los fundadores en el continente (Bianchi y col 1998, Ruiz-Linares y col 1999, Tarazona-Santos y col 2001). Se trata de una muestra de Jujuy, ocupa una posición central en la distribución y se designa como Hp0. Los cinco haplotipos M3 derivados de Azampay se ubican a tres y cuatro pasos mutacionales, más

relacionados a muestras del extremo norte que a las de la misma provincia catamarqueña. Como se comparó en RESULTADOS-TABLA 3, el haplogrupo amerindio tiene allí baja frecuencia, sólo 5 varones se incluyen en esta red, con posiciones muy marginales en relación al fundador. Dada esta conformación, es posible suponer un origen fuera de los límites provinciales para los linajes americanos, tanto de Azampay como de la muestra de Catamarca. En la red, una serie de haplotipos forman un agrupamiento particular. Se señalan con una flecha en el gráfico 3, son 20 muestras que comparten el alelo 14 en el locus DYS 393, una característica de identidad ya reportada en la bibliografía como de distribución micro-regional dentro del NOA (Martínez-Marignac y col, 2001).

La red R1, uno de los haplogrupos mayoritarios en Azampay, incluye 48 individuos de todas las localidades (GRÁFICO 4). El haplotipo central está representado en una muestra de Salta y en relación a él, los linajes más frecuentes se encuentran a uno y dos pasos mutacionales, mientras los restantes se reparten a distancias mayores. Todos los haplotipos azampeños aparecen relacionados a linajes de San Fernando del Valle de Catamarca, tanto sea a los compartidos (TABLA 4), como a otros típicos de esta población y es a partir de ellos que se alejan del haplotipo central. Los datos se procesaron con el algoritmo “*star contraction*”, que reúne en un mismo nodo todos los posibles linajes relacionados a partir de un evento histórico de expansión demográfica. En esta red se verificaron dos agrupamientos, señalados en el gráfico con un asterisco. Engloban 7 varones de Azampay no relacionados genealógicamente, a esos nuevos nodos no se une ningún otro haplotipo de otra población ni se observó este fenómeno de asociación en otro punto de la red.

El análisis sobre diversidad de ADN mitocondrial presentó un panorama muy diferente al expuesto hasta ahora. Los 126 pobladores de Azampay poseen un antepasado femenino natural del continente, resultando representados los cuatro haplogrupos panamericanos detallados en la literatura (Achilli y col, 2008) y absolutamente ausente cualquier otro oriundo de otra región del planeta. Esta singularidad distingue a Azampay en el contexto de las localidades del NOA consideradas aquí, además de la elevada frecuencia del haplogrupo B2 (62,7% del total, ver RESULTADOS - TABLA 13), lo que a este nivel de comparación se traduce en una mayor similitud con las muestras de Jujuy y Salta, contrario a lo registrado entre las frecuencias de haplogrupos del cromosoma Y. Si se evalúa Azampay contra los porcentuales de Catamarca, resulta la segunda población con la que presenta las máximas diferencias, ya que en esta ciudad, además de presentarse una fracción de linajes extra americanos, la frecuencia de B2 disminuye notablemente y se incrementa la cantidad de individuos asignables al haplogrupo D1 (31,3%), el

de menor registro en Azampay. Finalmente, la muestra de Tucumán es la más divergente del conjunto y resulta la más alejada de Azampay.

La dispersión de B2 presenta algunas singularidades regionales en Sudamérica. En estudios sobre ADN antiguo (Lalueza y col, 1997) se reportó la total ausencia de este haplogrupo en muestras de poblaciones autóctonas de Tierra del Fuego. Se obtuvieron idénticos resultados en restos de diferentes sitios arqueológicos de Argentina (Demarchi y col, 2001), en tanto investigaciones sobre grupos aborígenes actuales y poblaciones mestizas (Alves-Silva y col, 2000; Rodríguez Delfín y col, 2001; Lewis y col, 2004; García y col, 2006; Lewis y col, 2007; Castro de Guerra, 2009) revelan que están representados los cuatro linajes panamericanos, pero B2 tiene un mayor desarrollo andino, con frecuencias particularmente elevadas en el Altiplano de Bolivia y el extremo norte de Chile (Bailliet y col, 1994; Merriwether y col, 1995; Moraga y col, 2000; Rocco y col, 2001; Bert y col, 2001) decreciendo hacia el sur. En las muestras analizadas aquí, los mayores porcentajes se presentan en localidades situadas en valles de altura y disminuyen en otros contextos. Azampay es la única población rural de la muestra, en un valle de altura en la naciente de un río, con características más ajustadas a un contexto poblacional andino.

Contando cada uno con distinto número de portadores (desde 1 hasta 34), se identificó un total de 16 linajes mitocondriales. Esta cantidad es significativamente diferente comparada con la gran variedad de haplotipos masculinos. En base a las genealogías conocidas, fue posible asignar el ancestro femenino para todas las muestras y corroborar información confusa sobre grados de parentesco. Se encontró también que en dos linajes del haplogrupo A2 se incluyen cuatro pobladores no emparentados por ninguna vía conocida. Esta relación excede los registros orales y la memoria de los informantes, remontándose hasta un antepasado perdido. Se construyó una sola tabla (TABLA 11) para comparar la cantidad de linajes definidos a partir de portar un apellido común, con la cantidad de linajes mitocondriales. Si la tabla es leída desde arriba hacia abajo, puede analizarse la diversidad intrafamiliar siguiendo los apellidos. Dado que el patrón de herencia molecular es a través de un progenitor femenino a toda su descendencia, no se esperarían en este análisis coincidencias absolutas si los apellidos se heredasen siempre por exclusiva vía paterna. Como ya se ha dicho, este no es el caso de Azampay. Del total de 15 apellidos, 6 incluyen un solo linaje mitocondrial. En 2 casos se trata de coincidencias obligadas, porque están representados por un solo individuo, pero los 4 restantes comprenden más de una persona, tanto mujeres como varones y son ejemplos claros de transmisión del apellido materno. Leyendo la tabla de izquierda a derecha, pueden encontrarse 8 correlaciones de un solo linaje con un solo apellido, pero no son las mismas coincidencias anteriores. A excepción de los linajes

1 y 9 (ejemplos de transmisión del apellido materno), los demás son susceptibles de desaparecer de la población, corresponden a madres que sólo tuvieron descendencia masculina. Por último, dentro de esta diversidad, se identificaron los haplotipos mitocondriales de las cuatro mujeres que integraron el núcleo fundador de Azampay, encontrando que tres de ellas tuvieron una descendencia numerosa, en tanto el linaje restante sólo está representado hoy por varones y posiblemente se pierda.

Dado que no pudo disponerse de secuencias completas de la Región Control para todas las muestras de ADN mitocondrial de las cinco poblaciones del Noroeste, los análisis estadísticos se desarrollaron sólo con datos de frecuencias de haplogrupos. En el cálculo de AMOVA (RESULTADOS - TABLA 15) el porcentaje de variación dentro de cada localidad (87,39%) fue muy superior al de las divergencias entre ellas (12,61%), resultando ambos valores estadísticamente significativos más allá del azar. La distribución de la variabilidad no presentó una correlación significativa con el espacio geográfico ocupado, algo que tampoco se registró para la distribución de haplogrupos del cromosoma Y.

Comparando Azampay con cada una de las localidades a nivel mitocondrial (TABLA 16), las menores distancias se registraron con San Salvador de Jujuy y Salta y ya no se dan similitudes destacables con San Fernando del Valle de Catamarca. A su vez, Salta y Jujuy resultaron indistinguibles entre sí. Sobre la misma matriz de distancias se construyó el árbol de clasificación filogenético y el análisis de coordenadas principales, revelando ambas gráficas la misma tendencia: Azampay, Salta y Jujuy se agrupan por compartir las frecuencias más altas del haplogrupo B2. Estudios recientes sobre poblaciones del centro del país reportan también diferencias en la representación de este haplogrupo. B2 y A2 tienen frecuencias más elevadas en una localidad de San Luis, mientras que en muestras de diversas poblaciones de Córdoba, la provincia contigua, C1 y D1 resultan más frecuentes (García y Dermarchi, 2009). En el resto de Argentina, para la región noreste se ha reportado una frecuencia de B2 del 11,2%, que disminuye a la mitad en muestras de Chubut y Río Negro (Bobillo y col, 2009). En muestras de La Rioja y San Juan, los linajes maternos de ancestría americana tienen un elevado porcentaje (86%), pero el haplogrupo B2 tampoco representa aquí una fracción importante de ese total (Motti y col, 2009).

En cuanto a su origen continental, los linajes femeninos y masculinos en Azampay fueron absolutamente dispares. Mientras la totalidad de haplogrupos mitocondriales se clasifican como americanos, el 88% de los haplogrupos masculinos tienen procedencia foránea. Estos porcentajes son similares a lo publicado en la bibliografía. En su estudio sobre muestras de San Salvador de Jujuy y la Quebrada de Humahuaca, Dipierri y colaboradores (1998) también

reportaron completa ancestría americana por vía materna, en tanto 40,5 % de los linajes masculinos serían introducidos, con frecuencias que disminuyen en relación a la altura sobre el nivel del mar de la población considerada. En el noroeste colombiano se registró la misma tendencia asimétrica, con un 90% de linajes mitocondriales americanos y un 99% de cromosomas Y de procedencia extra continental (Carvajal-Carmona y col 2000, Bedoya y col, 2006). Wang y colaboradores (2008), en su citado estudio sobre 13 poblaciones mestizas de 7 países con marcadores autosómicos y uniparentales, encontraron que a nivel de cromosoma X y ADN mitocondrial, la proporción de ancestría amerindia tiende siempre a ser mayor que la europea, un patrón consistente con registros históricos sobre mestizajes que involucraban mayormente a mujeres americanas y hombres extranjeros. De hecho, durante los primeros siglos de la instalación colonial, la población masculina predominante era alóctona y se toleraban los matrimonios mixtos siempre que no los formaran mujeres europeas (Rodríguez Delfín y col, 2001). Este fenómeno de sesgo de origen según el sexo sería común a toda América Latina.

Las genealogías y datos censales expuestos en este trabajo no se consideran de ninguna manera como definitivos. Como ya se ha mencionado, el número de habitantes de Azampay ha presentado fluctuaciones a lo largo de los decenios, no superando nunca las 300 personas asentadas. Es altamente probable que en el curso de los pocos años transcurridos entre las entrevistas en el terreno y la redacción de esta tesis, muchos de ellos hayan migrado o nuevos vecinos se hayan establecido en Azampay, además de los posibles nacimientos y decesos. Los datos analizados y las conclusiones que se presentan aquí sólo se refieren a un momento breve y perfectamente acotado en su historia poblacional, cuya dinámica es profunda y compleja, incluida en un circuito regional de migraciones. El traslado es una estrategia asentada en el NOA, tiene su origen en el proceso de desarrollo general del país, donde los principales mercados de trabajo y focos de atracción de mano de obra se ubican en zonas agroproductoras o urbanas de promoción industrial, en detrimento de las pequeñas economías regionales de la precordillera y puna (Forni y col, 1993). Las migraciones internas en Argentina tienen características generales comunes a las del resto de Sudamérica, pueden cubrir distintas distancias, pero todas tienen una dirección predominante: desde las regiones rurales hacia las medianas y grandes urbes. En tanto las oportunidades económicas continúen polarizadas, el interés sobre esos focos mantiene un nivel importante de flujo génico (Tarazona-Santos y col, 2001), de modo que la migración es uno de los factores que influye a corto y largo plazo en la redistribución territorial de la población y en las características que la definen a nivel molecular. Las presiones migratorias surgen por diferencias básicas en las condiciones y oportunidades de

desarrollo, pero la posibilidad de utilizar el desplazamiento como estrategia no ha sido igual para todos los grupos sociales (Busso, 2006). En el caso analizado aquí, al carecer de capacitación, el traslado no implica necesariamente la inclusión en un sector laboral más ventajoso. La formación a la que pueden acceder los azampeños no supera en general la escolaridad básica, desarrollan un estilo de vida muy austero, en un contexto de gran escasez de bienes. Sin inversión tecnológica en un medio con un limitante régimen de aguas, las actividades ganaderas con horticultura familiar y la producción artesanal de tejidos o cueros no pueden generar un excedente que absorba y contenga el crecimiento poblacional.

En su estudio sobre la migración en Azampay, Maffia y Zubrzycki (2001) escriben: “En esta localidad (...) se condensan una heterogeneidad de situaciones migratorias, en cuanto a su duración, dirección, participantes y motivaciones, referidas recurrentemente en los relatos de los entrevistados”. Consignada como la principal estrategia de reproducción de cada grupo doméstico, identifican tres periodos a lo largo de la historia de la población. En el primero, desde el asentamiento del núcleo fundador hasta mediados del siglo XX, la localidad mantenía un nivel de equilibrio dinámico. Los habitantes tienen la posibilidad de generar recursos que aseguran su reproducción en el lugar. A medida que las familias incrementan su número, la tenencia irregular de tierras y la irrigación por turnos a través de las acequias comienzan a ser insuficientes para mantener ese equilibrio basado sólo en la agroganadería. El trabajo estacional en la zafra en Salta y Tucumán instala, a partir de 1950 y 1960, un esquema económico familiar que incluye la migración de alguno de sus miembros, generalmente los hombres jóvenes y en menor medida, las mujeres solteras. A fines de este segundo periodo, cuando la cosecha de caña comenzó a automatizarse, ya no requirió grandes masas de trabajadores. Los azampeños se desplazaron entonces a las cosechas de fruta en La Rioja y Mendoza, ganando importancia también el mercado de la construcción y el servicio doméstico. Finalmente, el tercer periodo comprende desde mediados de la década del '80 hasta la actualidad, donde los traslados tienden a realizarse mayormente dentro de los límites provinciales. En la medida en que los migrantes no formen una nueva familia, continúan realizando aportes de dinero al grupo doméstico residente en Azampay. Sus hijos, ya sea nacidos en la localidad antes de migrar o fuera de ella y regresados, completan allí la escolaridad, quedando su crianza a cargo de los abuelos. “La familia no pierde su organización (...) solamente se reestructura de forma de garantizar la reproducción social del grupo” (Maffia y Zubrzycki, 2001)

Históricamente, la migración constituía un traslado unidireccional que ocurría una única vez en la vida de individuo o una familia. Azampay no es una economía transhumante, pero la migración no acontece una sola vez y puede tener un sentido de regreso, a través de los niños

que crecen con sus abuelos. Se emplean las expresiones de “factores de expulsión” y “factores de atracción” para centrarse precisamente en esos aspectos y estos nuevos actores se denominan “transmigrantes”, cuyo espacio social se entreteje entre diferentes lugares. Los movimientos de población son flujos duraderos que dan lugar a nuevas realidades independientemente de la región de procedencia o de llegada (Falero, 2002). La migración es uno de los recursos que tienen individuos y hogares para escapar de o no caer en situación de pobreza. Esta comunidad rural, con economía de subsistencia basada en la multi o pluri actividad, funciona según un modelo centrífugo, expulsando algunos de sus habitantes para insertarse laboralmente fuera de sus límites.

Conclusiones

La variabilidad de las poblaciones humanas actuales responde a un número diverso de factores. En el caso de nuestro continente, las variaciones intra e interpoblacionales son también reflejo directo de sucesos históricos de muy poca profundidad temporal en términos evolutivos. Desde 1492 hasta hoy, las comunidades de cada región geográfica resultan de mestizajes poblacionales masivos que involucraron corrientes migratorias de diverso origen. Estos fenómenos fueron en ocasiones drásticos y violentos, con componentes pluri étnicos y aportes diferenciales según el género masculino o femenino.

En el caso de Azampay, esta diferencia ha resultado más que destacada. Empleando marcadores genéticos de herencia uniparental, se identificaron todos los linajes maternos y paternos presentes en la población actual y se estableció el origen geográfico más probable en base a las filogenias mundiales ya establecidas para ADN mitocondrial y cromosoma Y. El componente amerindio es absoluto para los antepasados femeninos (100% de la población), contrastando notablemente con los antepasados masculinos (12,3%).

Tal como se registrara en trabajos anteriores sobre la misma localidad, el tipo de familia es designado como informal. Las genealogías relevadas a partir de los datos censales y de entrevistas a los donantes extienden los lazos de parentesco hasta incluir a todos los habitantes, relacionando un importante porcentaje (88%) al denominado núcleo fundador. Entre aquellos primeros pobladores se contaban 4 linajes paternos, 4 linajes maternos y 8 apellidos. Hoy, en la comunidad, persisten 2 de aquellos linajes masculinos originales, todos los femeninos y 7 apellidos, resultando este último sistema el menos diverso. Con excepción de 3 linajes, no se encontró concordancia entre la herencia del cromosoma Y y la del apellido, registrándose mayormente la transmisión a través del progenitor femenino.

Azampay se encuentra activamente inserta en el contexto de la región Noroeste de Argentina. El análisis comparativo de los índices de variabilidad intra e interpoblacional ha resultado en pruebas sustanciales para conocer las singularidades y dinámica de este proceso de integración. Debido a la imprecisa definición del status jurídico de las tierras y al limitante y ajustado recurso del agua, las propiedades no pueden dividirse. La economía es de subsistencia,

no existen inversiones en tecnología ni posibilidades de contención laboral para los lugareños que alcanzan edad productiva. Históricamente, se incluyen en mercados de trabajo fuera de Azampay, que alcanza un radio menor o mayor dependiendo de las oportunidades particulares o de la situación general del país, pero que en general no supera los límites del NOA.

Este circuito de transmigrantes se completa con el establecimiento y la crianza de los nietos por sus abuelos. Es la vía de introducción de nuevos linajes, tanto masculinos como femeninos, incrementando la variabilidad, algo que no siempre tiene como correlato un incremento en la cantidad de apellidos registrados. La condición de semi - aislamiento que se asignaba a esta comunidad es sólo una categoría analítica y ciertamente no poblacional, presentando niveles de diversidad comparables a los establecidos para muestras de ciudades urbanas de densidades demográficas mayores.

“Population is a group of interbreeding individuals that exist together in time and space.

Often, it is assumed that a population is geographically well defined, though this may not always be true.”

Philip W. Hedrick

Genetics of populations
Jones y Bartlett ed. (2000)

“El parentesco no es nada en sí mismo, sino más bien la expresión de múltiples relaciones: económicas, políticas, de propiedad.

Es un código que regula el acceso y la transmisión de los recursos básicos de una comunidad, fundamentales para su producción y reproducción.”

Edmund Leach

BIBLIOGRAFIA

- ABDELWAHED A. 2000. *La inmigración árabe en Argentina (1880-1980)* Tesis Doctoral Universidad Complutense de Madrid. España.
- ACHILLI A, PEREGO UA, BRAVI CM, COBLE MD, KONG QP, WOODWARD SR, SALAS A, TORRONI A, BANDELT HJ. 2008. *The Phylogeny of the Four Pan-American mtDNA Haplogroups: Implications for Evolutionary and Disease Studies*. Plos ONE Marzo 2008 Volumen 3: 3 e1764
- ALBERDI JB .1852. *Bases y puntos de partida para la organización política de la República Argentina en Proyecto y Construcción de una Nación (Argentina 1846-1880)* Biblioteca Ayacucho, Caracas, 1980
- ALVES-SILVA J, DA SILVA SANTOS M, GUIMARAES PEM, FERREIRA ACS, BANDELT HJ, PENA SDJ, FERREIRA PRADO V. 2000. *The Ancestry of Brazilian mtDNA Lineages*. American Journal of Human Genetics 67:444–461
- ANDERSON S, BANKIER AT, BARRELL BG Y COL. 1981. *Sequence and organization of the human mitochondrial genome*. Nature 290, 457 – 465
- ANDREWS RM, KUBACKA I, CHINNERY PF, LIGHTOWLERS RN, TURNBULL DM, HOWELL N. 1999. *Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA*. Nature Genetics 23, 147
- ARIS-BROSOU S, EXCOFFIER L.1996. *The Impact of Population Expansion and Mutation Rate Heterogeneity on DNA Sequence Polymorphism* Molecular Biology and Evolution 13(3):494-504.
- BAILLIET G, ROTHHAMMER F, CARNESE F, BRAVI C, BIANCHI NO. 1994. *Founder Mitochondrial Haplogroups in Amerindian Populations*. American Journal of Human Genetics 55: 27-33.
- BAILLIET G, CASTILLA E, ADAMS JP, ORIOLI IM, MARTÍNEZ-MARIGNAC VL, RICHARD SM, BIANCHI NO. 2001. *Correlation between Molecular and Conventional Genealogies in Aicuña: A Rural Population from Northwestern Argentina* Human Heredity 51:150–159
- BAILLIET G, RAMALLO V, ALFARO EL, DIPIERRI JE, BIANCHI NO. 2005. *Linajes holándricos en tres provincias del NOA*. Revista de la Sociedad Argentina de Genética. Actas del XXXIV Congreso Argentino de Genética, volumen XVII página 181.
- BAILLIET G, MUZZIO M, RAMALLO V, ALFARO EL, DIPIERRI JE, BIANCHI NO. 2007. *Linajes paternos y apellidos en genealogías y poblaciones humanas*. Revista Argentina de Antropología Biológica. Actas de las Octavas Jornadas Nacionales de Antropología Biológica. Volumen 9, número 1, página 30.
- BALANOVSKY O, ROOTSI S, PSHENICHNOV A, KIVISILD T, CHURNOSOV M, EVSEEVA I, POCHESHKHOVA E, BOLDYREVA M, YANKOVSKY N, BALANOVSKA E, VILLEMS R. 2008. *Two Sources of the Russian Patrilineal Heritage in Their Eurasian Context*. American Journal of Human Genetics 82, 236–250
- BANDELT HJ, FORSTER P, RÖHL A. 1999. *Median-Joining Network for inferring intraspecific phylogenies*. Molecular Biology and Evolution. 16(1): 37-48

- BASU A, MUKHERJEE N, ROY S, SENGUPTA S, BANERJEE S, CHAKRABORTY M, DEY B, ROY M, ROY B, BHATTACHARYYA NP, ROYCHOUDHURY S, MAJUMDER PP 2003 Ethnic India: A Genomic View, With Special Reference to Peopling and Structure *Genome* 13:2277–2290
- BEDOYA G, MONTOYA P, GARCIA J Y COL 2006. *Admixture dynamics in Hispanics: a shift in the nuclear genetic ancestry of a South American population isolate*. Proceedings of the National Academy of Sciences, Estados Unidos. 103:7234–7239.
- BERGEN AW, WANG CY, TSAI J, JEFFERSON K, DEY C, SMITH KD, PARK, SC, TSAI SJ, GOLDMAN D. 1999 *An Asian–Native American paternal lineage identified by RPS4Y resequencing and by microsatellite haplotyping* *Annals of Human Genetics*, 63:1:63-80 Cambridge University Press
- BERT F, CORELLA A, GENE M Y COL. 2001. *Major mitochondrial DNA haplotype heterogeneity in highland and lowland Amerindian populations from Bolivia*. *Human Biology* 73:1–16.
- BESAGGIO D, FUSELLI S, SRIKUMMOOL M, KAMPUANSAI J, CASTRÌ L, TYLER-SMITH C, SEIELSTAD M, KANGWANPONG D, BERTORELLE G 2007 *Genetic variation in Northern Thailand Hill Tribes: origins and relationships with social structure and linguistic differences* *BioMedCentral Evolutionary Biology*, 7(Suppl 2):S12
- BIANCHI NO, BAILLIET G, BRAVI CM, PENA SD, ROTHHAMMER F 1997 *Origin of American Y-Chromosome as inferred by the analysis of six polymorphic markers*. *American Journal of Physical Anthropology* 102:79-89
- BIANCHI NO, CATANESI CI, BAILLIET G, MARTINEZ-MARIGNAC VL, BRAVI CM, VIDAL-RIOJA LB, HERRERA RJ, LÓPEZ-CAMELO JS 1998 *Characterization of Ancestral and Derived Y-Chromosome Haplotypes of New World Native Populations* *American Journal of Human Genetics*. 63:1862–1871
- BOBILLO MC, ZIMMERMANN B, SALA A, HUBER G, RÖCK A, BANDELT HJ, CORACH D, PARSON W. 2009. *Amerindian mitochondrial DNA haplogroups predominate in the population of Argentina: towards a first nationwide forensic mitochondrial DNA sequence database* *International Journal of Legal Medicine* DOI 10.1007/s00414-009-0366-3
- BONAVIA D. 1991. *Perú: Hombre e Historia: De los orígenes al siglo XV*. Volumen I. EDUBANCO, Lima
- BORTOLINI MC, SALZANO F, THOMAS MG, STUART S, NASANEN SPK, BAU CHD, HUTZ MH, LAYRISSE Z, PETZL-ERLER ML, TSUNETO LT, HILL K, HURTADO AM, CASTRO DE GUERRA D, TORRES MM, GROOT H, MICHALSKI R, NYMADAWA P, BEDOYA G, BRADMAN N, LABUDA D, RUIZ LINARES A. 2003 *Y-Chromosome Evidence for Differing Ancient Demographic Histories in the Americas*. *American Journal of Human Genetics* 73:524-539
- BOWDEN GR, BALARESQUE P, KING TE, HANSEN Z, LEE AC, PERGL-WILSON G, HURLEY E, ROBERTS SJ, WAITE P, JESCH J, JONES AL, THOMAS MG, HARDING SE, JOBLING MA. 2007 *Excavating past population structures by surname-based sampling: the genetic legacy of the Vikings in northwest England* *Molecular Biology and Evolution* November 20
- BRAVI CM, PARSON W, BANDELT HJ. 2006 *Numst revisited*. En *Nucleid Acids and Molecular Biology. Human Mitochondrial DNA and the Evolution of Homo sapiens*. Vol 18. Bandelt, Macaulay, Richards (editores) Springer-Verlag Berlin Heidelberg
- BUSO G. 2006. *Migración Interna, Pobreza y Desarrollo Territorial en el Cono Sur de América Latina: Impactos Sociodemográficos de la Migración Interna a nivel de Divisiones Administrativas Mayores en Argentina, Bolivia, Brasil y Chile* *Actas de la I Reunión de Expertos sobre Población y Pobreza en América Latina y el Caribe*. Comisión Económica para América Latina y el Caribe - Fondo de Población de las Naciones Unidas
- CARAMAGNA D, SALCEDA SA, MEND EZ MG, HEIDERSCHIED V, GARCIA MANCUSO R. 1999 *Perfil Patológico Dental de la población de Azampay (Belén, Catamarca)*. *Actas de la XVII Reunión Científica Anual de la Sociedad de Biología de Cuyo*. Merlo, San Luís.

- CARVAJAL-CARMONA LG, SOTO ID, PINEDA N, ORTÍZ-BARRIENTOS D, DUQUE C, OSPINA-DUQUE J, MCCARTHY M, MONTOYA P, ALVAREZ VM, BEDOYA G, RUIZ-LINARES A. 2000. *Strong Amerind/White Sex Bias and a Possible Sephardic Contribution among the Founders of a Population in Northwest Colombia* American Journal of Human Genetics. 67:1287–1295
- CASTRO DE GUERRA D, FIGUERA PÉREZ C, IZAGUIRRE MH, RODRIGUEZ-LARRALDE A, GUERRA CASTRO E, MARTÍNEZ MÉNDEZ D, PUJOL F. 2009 *Diversidad mitocondrial en el Noroccidente de Venezuela. Implicaciones para probables rutas migratoria prehispanicas*. Acta Biológica Colombiana, 14 (1):173 - 184
- CHINNERY, PF. 2006 *Mitochondrial DNA in Homo sapiens*. En *Nucleid Acids and Molecular Biology. Human Mitochondrial DNA and the Evolution of Homo sapiens*. Vol 18. Bandelt, Macaulay, Richards (editores) Springer-Verlag Berlin Heidelberg
- CRUCIANI F, SANTOLAMAZZA P, SHEN P, MACAULAY V, MORAL P, OLCKERS A, MEDIANO D, HOLMES S, DESTRO-BISOL G, COIA V, WALLACE DC, OEFNER PJ, TORRONI A, CAVALLI-SFORZA L, SCOZZARI R, UNDERHILL PA. 2002. *A Back Migration from Asia to Sub-Saharan Africa Is Supported by High-Resolution Analysis of Human Y-Chromosome Haplotypes* American Journal of Human Genetics 70:1197–1214
- CUMMINGS, MR. 2000. *Human Heredity: principles and issues*. 5ta edición Brooks/Cole, Pacific Grove.
- DE BENEDICTIS, PASSARINO 2005 *Mitochondrial DNA polymorphisms*. Encyclopedia of life Sciences . ePub 2006 <http://dx.doi.org/10.1038/npg.els.0006163>
- DEMARCHI DA, PANZETTA DURTARI GM, COLANTONIO SE, MARCELLINO AJ. 2001 *Absence of the 9 bp deletion of mitochondrial DNA in pre-hispanic inhabitants of Argentina*. Human Biology. Vol 73:4
- DEMARCHI DA, GARCÍA MINISTRO A. 2008 *Genetic Structure of Native Populations from the Gran Chaco Region, South America*. International Journal of Human Genetic, 8(1-2): 131-141
- DE LUCAS J, 2003 *La inmigración sirio-libanesa en la Argentina*. Grupo de Estudios Población, Migración y Desarrollo. Instituto de Investigación Gino Germani, Universidad Nacional de Buenos Aires
- DIPIERRI JE 2004 *Apellidos del Noroeste Argentino: distribución, isonimia, estructura y dinámica poblacional*. Tesis de Maestría. Facultad de Humanidades y Ciencias Sociales. Universidad Nacional de Jujuy.
- DIPIERRI JE, RODRÍGUEZ LARRALDE A, ALFARO EL, ANDRADE A, CHÁVEZ E, BARRAI I. 2005, *Distribución de apellidos y migración en el noroeste argentino*. Antropo, 10, 35-50. www.didac.ehu.es/antropo
- ESTOUP A, CORNUET JM. 1999. *Microsatellite evolution: inferences from population data*. En: Goldstein D, Schlötterer C. (Editores) *Microsatellites Evolution and Applications*. Oxford University Press, New York. Capítulo 5, pp. 49-65
- EXCOFFIER L, SMOUSE P, QUATTRO J 1992 *Analysis of molecular variance inferred from metric distance among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data*. Genetics 131:479, 491.
- EXCOFFIER L, LAVAL G, SCHNEIDER S. 2005 *Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis*. Evolutionary Bioinformatics Online 1:47-50
- FALERO A. 2002. *Migración laboral: un desafío para la sociedad civil*. Revista de Ciencias Sociales. Departamento de Sociología Año XV / N°20
- FLORES INFANTE, C A 2001 *Composición genética y posible origen paterno de las poblaciones humanas canarias, deducidos de su polimorfismo en el cromosoma Y*. Tesis doctoral. Universidad de La Laguna. Islas Canarias, España
- FORD EB. 1940. *Polymorphism and taxonomy*. En HUXLEY J. *The new systematics*. Oxford.
- FONI F, TORT MI, JIMENEZ D, PESSINA L. 1993 *Estudios Socio-Antropologicos De La Puna Catamarqueña*. CLACSO

- GARCÍA F, MORAGA M, VERA S, HENRÍQUEZ H, LLOP E, ASPILLAGA E, ROTHHAMMER F. 2006. *mtDNA microevolution in Southern Chile's archipelagos*. American Journal of Physical Anthropology 129 (3): 473-481
- GARCÍA A, RAMALLO V, BAILLIET G, DEMARCHI DA 2008. *Análisis de linajes paternos en poblaciones rurales del centro de Argentina* Revista de la Sociedad Argentina de Genética. Actas del XXXVII Congreso Argentino de Genética, volumen XIX página 209
- GARCÍA A, DEMARCHI DA. 2009. *Incidence and Distribution of Native American mtDNA Haplogroups in Central Argentina*. Human Biology 81(1):59-69
- GOMEZ A, AVILA SJ, BRICEÑO I. 2008. *De genotipos e isonimias: análisis de correlación entre el apellido y el patrimonio genético heredado en el cromosoma Y en la población de tres departamentos del suroccidente colombiano*. Biomédica. Vol.28;03
- GONZÁLEZ AR. 1955. *Contextos culturales y cronología en el área central del NO argentino*. En Anales de Arqueología y Etnología XI, Mendoza, Argentina.
- GONZÁLEZ-ANDRADE F, SÁNCHEZ D, MARTÍNEZ-JARRETA B 2006. *El mestizaje genético en Ecuador y su aplicación médico forense* Ciencia Forense, 8: 133-154
- GUSMAO L, SÁNCHEZ-DÍAZ P, CALAFELL F, MARTÍN P, ALONSO CA, ALVAREZ-FERNÁNDEZ F, ALVES C, BORJAS-FAJARDO L, BOZZO WR, BRAVO ML, BUILES JJ, CAPILLA J, CARVALHO M, CASTILLO C, CATANESI CI, CORACH D, DI LONARDO AM, ESPINHEIRA R, FAGUNDES DE CARVALHO E, FARFÁN MJ, FIGUEIREDO HP, GOMES I, LOJO MM, MARINO M, PINHEIRO MF, PONTES ML, PRIETO V, RAMOS-LUIS E, RIANCHO JA, SOUZA GOES AC, SANTAPA OA, SUMITA DR, VALLEJO G, VIDAL RIOJA L, VIDE MC, VIEIRA DA SILVA CI, WHITTLE MR, ZABALA W, ZARRABEITIA MT, ALONSO A, CARRACEDO A, AMORIM 2005. *A Mutation Rates at Y Chromosome Specific Microsatellites* Human Mutation 26(6), 520-528
- HAMMER MF. 1994 *A recent insertion of an Alu element on the Y chromosome is a useful marker for human population studies*. Molecular Biology and Evolution 11:749-761
- HAMMER MF, HORAI S. 1995. *Y chromosomal DNA variation and the peopling of Japan*, American Journal of Human Genetics, 56 (4): 951-962
- HOWELL N, SMEJKAL CB, MACKAY DA, CHINNERY PF, TURNBULL DM, HERRNSTADT C. 2003. *The pedigree rate of sequence divergence in the human mitochondrial genome: there is a difference between phylogenetic and pedigree rates*. American Journal of Human Genetics 72:659–670
- INDEC. 2001. *Indicadores demográficos por provincia 1991-2001*. www.indec.gov.ar
- JOBLING MA. 2001. *In the name of the father: surnames and genetics*. Trends Genetics. 17:353-357.
- JOBLING MA, TYLER-SMITH C. 1995. *Fathers and sons: the Y chromosome and human evolution*. Trends Genet 11:449-456.
- JOBLING MA, TYLER-SMITH C. 2003. *The human Y chromosome: an evolutionary marker comes of age*. Nature. Vol 4:598-612.
- JOBLING MA, HURLES ME, TYLER-SMITH C. 2004. *Human Evolutionary Genetics: Origins, Peoples and Disease* London/New York: Garland Science Publishing,
- KARAFET TM, ZEGURA SL, VUTURO-BRADY, POSUKH O, OSIPOVA L, WIEBE, ROMERO, LONG J, HARIHARA S, JIN, DASHNYAM, GERESAILKHAN, OMOTO, HAMMER MF. 1997. *Y chromosome markers and trans-Siberian Strait dispersal*. American Journal of Physical Anthropology. 102:301-314
- KARAFET TM, ZEGURA SL, POSUKH O, OSIPOVA L, BERGEN A, LONG J, GOLDMAN D, KLITZ W, HARIHARA S, DEKNIJFF P, WIEBE V, GRIFFITHS RC, TEMPLETON AR, HAMMER MF. 1999. *Ancestral Asian source(s) of New World Y-chromosome founder haplotypes*. American Journal of Human Genetics 64:817–831

- KARAFET TM, MENDEZ FL, MEILERMAN MB, UNDERHILL PA, ZEGURA SL, HAMMER MF. 2008. *New binary polymorphisms reshape and increase resolution of the human Y chromosomal haplogroup tree*. Genome Research. 18:830-838
- KAYSER M, ROEWER L, HEDMAN M, HENKE L, HENKE J, BRAUER S, KRUGER C, KRAWCZAK M, NAGY M, DOBOSZ T, SZIBOR R, DE KNIJFF P, STONEKING M, SAJANTILA A 2000. *Characteristics and frequency of germline mutations at microsatellite loci from the human Y chromosome, as revealed by direct observation in father/son pairs*. American Journal of Human Genetics 66:1580–1588
- KAYSER M, KRAWCZAK M, EXCOFFIER L, DIETJES P, CORACH D, PASCALI V, GEHRIG C, BERNINI LF, JESPERSEN J, BAKKER E, ROEWER L, DE KNIJFF P 2001 *An Extensive Analysis of Y-Chromosomal Microsatellite Haplotypes in Globally Dispersed Human Populations*. American Journal of Human Genetics. 68:990–1018
- KHARKOV VN, STEPANOV VA, MEDVEDEVA OF, SPIRIDONOVA MG, MAKSIMOVA NR, NOGOVITSINA AN, PUZYREV VP. 2008. *The Origin of Yakuts: Analysis of the Y-Chromosome Haplotypes* Molecular Biology, Volumen 42 (2) 198–208.
- KIMURA M, OHTA T. 1978. *Stepwise mutation model and distribution of allelic frequencies in a finite population* Proceedings of the National Academy of Sciences Volumen 75, Número 6, 2868-2872
- KING TE, BALLEREAU SJ, SCHÜRER K, JOBLING MA. 2006. *Genetic signatures of coancestry within surnames*. Current Biology. 16:384-388.
- KING TE, JOBLING MA. 2009. *Founders, Drift, and Infidelity: The Relationship between Y Chromosome Diversity and Patrilineal Surnames*. Molecular Biology and Evolution. 26(5):1093–1102.
- LALUEZA C, PEREZ-PEREZ A, PRATS E, CORNUDELLA L, TURBON D. 1997. *Lack of founding Amerindian mitochondrial DNA lineages in extinct aborigines from Tierra del Fuego-Patagonia*. Human Molecular Genetics 6:41–46.
- LATTES A, OTEIZA E. 1987. *Dinámica migratoria argentina (1955-1984)* Centro Editor de América Latina. Buenos Aires.
- LEACH ER. 1961. *Pul Eliya, a Village in Ceylon: A Study of Land Tenure and Kinship*. Cambridge University Press.
- LELL JT, BROWN MD, SCHURR TG, SUKERNIK RI, STARIKOVSKAYA YB, TORRONI A, MOORE LG, TROUP GM, WALLACE DC 1997 *Y chromosome polymorphisms in Native American and Siberian populations: identification of native American Y chromosome haplotypes*. Human Genetics 100:536–543
- LELL JT, SUKERNIK RI, STARIKOVSKAYA YB, SU B, JIN L, SCHURR TG, UNDERHILL PA, WALLACE DC 2002 *The Dual Origin and Siberian Affinities of Native American Y Chromosomes* American Journal of Human Genetics. 70:192–206
- LEWIS CM, TITO R, LIZÁRRAGA B, STONE AC 2004 *Land, Language, and Loci: mtDNA in Native Americans and the Genetic History of Peru* American Journal of Physical Anthropology 127:351–360
- LEWIS CM, LIZÁRRAGA B, TITO RY, LÓPEZ PW, IANNAONE GC, MEDINA A, MARTÍNEZ R, POLO SI, DE LA CRUZ AF, CÁCERES AM. 2007 *Mitochondrial DNA and the Peopling of South America* Human Biology
- LONGO S. 2003 *La inmigración suiza en Argentina* Société Suisse des Américanistes. Bulletin 66-67, 49-58
- MAFFIA M, ZUBRZYCKI B. 2001 *Migraciones en Catamarca: el caso de la pequeña localidad de Azampay*. Revista Estudios Migratorios Latinoamericanos, Nro. 47, CEMLA, Buenos Aires, pp. 149-179.
- MAFFIA M, ZUBRZYCKI B, BALLINA S. 2004 *Estrategias metodológicas de abordaje en el estudio del parentesco y la familia*. Actas del II Congreso Nacional de Sociología, Buenos Aires

- MANRUBIA SC, DERRIDA B, ZANETTE DH. 2003 *Genealogy in the Era of Genomics* American Scientist 165 Marzo-Abril
- MANTEL N. 1967. *The detection of disease clustering and a generalized regression approach.* Cancer Research 27:209-220.
- MANTEL N, VALAND R. 1970. *A technique of nonparametric multivariate analysis.* Biometrics 26:547-558.
- MARTÍNEZ-MARIGNAC V, BAILLIET G, DIPIERRI JE, ALFARO EL, LÓPEZ-CAMELO JS, BIANCHI NO. 2001. *Variabilidad y antigüedad de linajes holándricos en poblaciones jujeñas.* Revista Argentina de Antropología Biológica 3(1): 65-77.
- MASCITTI V, DIPIERRI JE, OCAMPO SB 1990 *Sistema ABO, apellidos y miscegenación en poblaciones a diferentes niveles altitudinales.* CUADERNOS Nº 2-FHYCS: 63-66.
- MCEVOY B, BRADLEY DG. 2006. *Y-chromosomes and the extent of patrilineal ancestry in Irish surnames.* Human Genetics. 119:212-219.
- MERRIWETHER DA, ROTHHAMMER F, FERRELL RE. 1995. *Distribution of the four founding lineage haplotypes in native Americans suggest a single wave of migration for the New World.* American Journal of Physical Anthropology 98: 411-30
- MORAGA M, ROCCO P, MIQUEL JF, NERVI F, LLOP E, CHAKRABORTY R, ROTHHAMMER F, CARVALLO P. 2000. *Mitochondrial DNA polymorphisms in Chilean aboriginal populations: implications for the peopling of the southern cone of the continent.* American Journal of Physical Anthropology 113: 19-29
- MOTTI JMB, MUZZIO M, RAMALLO V, GARCÍA A, ALFARO EL, DIPIERRI JE, BAILLIET G, BRAVI C 2008 *Haplogrupos mitocondriales en muestras hospitalarias del Noroeste y Centro-Oeste de Argentina* Actas del X Congreso de la Asociación Latinoamericana de Antropología Biológica. La Plata, Buenos Aires
- MOTTI JMB, RODENAK B, MUZZIO M, RAMALLO V, SANTOS MR, CASTRO C, ALFARO EL, DIPIERRI JE, SCHEIBLE M, SAUNIER J, IRWIN J, COBLE M, BAILLIET G, BRAVI C. 2009. *The genetic composition of Argentina prior to the massive immigration era: insights from matrilineages of extant criollos in central-western Argentina.* Actas del 23rd World Congress International Society for Forensic Genetics. Buenos Aires, Argentina.
- MULLIS K, FALOONA F. 1987. *Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalyzed chain reaction.* Methods in Enzymology. 155:335-350.
- MUZZIO M, RAMALLO V, ALFARO EL, DIPIERRI JE, BIANCHI NO, BAILLIET G, 2006 *Correlación entre apellidos y linajes del cromosoma Y.* Revista de la Sociedad Argentina de Genética. Actas del XXXV Congreso Argentino de Genética, volumen XVII suplemento II página 81
- MUZZIO M, RAMALLO V, DIPIERRI JE, ALFARO EL, MOTTI JMB, SALCEDA S, BIANCHI NO, BAILLIET G 2008 *Patrones de similitud y diferenciación de linajes masculinos nativo-americanos en el Norte Argentino.* Actas del X Congreso de la Asociación Latinoamericana de Antropología Biológica. La Plata, Buenos Aires.
- NEI M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics.* Columbia University Press, Nueva York, Estados Unidos.
- ONAHA ME, SALCEDA SA, MENDEZ MG, TOBISCH A, PAN MF, PADULA G, DRUBE H. 1999. *Morfometría aplicada a la evaluación nutricional en la comunidad de Azampay, Catamarca.* Actas del III Congreso de la Sociedad de Ciencias Morfológicas de La Plata, I Congreso Internacional. La Plata.
- PALERMO MA. 2000. *A través de la frontera. Economía y sociedad indígena desde el tiempo colonial hasta el siglo XIX* En Nueva Historia Argentina Tomo II *Los pueblos originarios y la conquista* Tarragó MN (editora) Editorial Sudamericana
- PEREIRA L, DUPANLOUP I, ROSSER ZH, JOBLING MA, BARBUJANI G. 2001 *Y-chromosome Mismatch Distributions in Europe.* Molecular Biology and Evolution 18 (7): 1259-1271

- POLZIN T, DANESCHMAND SV. 2003 *On Steiner trees and minimum spanning trees in hypergraphs*. Operations Research Letters 31:12-20
- PRIMMER CR, ELLERGREN H. 1998. *Patterns of molecular evolution in avian microsatellites*. Molecular Biology and Evolution. 15:997-1008
- QUIJADA M. 2003 *¿Qué nación? Dinámicas y dicotomías de la nación en el imaginario hispanoamericano del siglo XIX*. En *Iberoamérica siglo XIX*. Coordinadores: VON DUSEK, GUERRA. Fondo de Cultura Económica
- RAMALLO V, ALFARO EL, DIPIERRI JE, BIANCHI NO, BAILLIET G 2005 *Caracterización de linajes paternos en muestras provenientes de tres provincias del NOA*. Revista Argentina de Antropología Biológica. Actas de las Séptimas Jornadas Nacionales de Antropología Biológica. Volumen 7, número 1, página 65.
- REYNOLDS J, WEIR BS, COCKERHAM CC. 1983 *Estimation of the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance*. Genetics 105: 767-779
- RICHARDS MB, MACAULAY VA, BANDELT H-J, SYKES BC 1998 *Phylogeography of mitochondrial DNA in western Europe*. Annals of Human Genetic 62:241-260
- RODRIGUEZ-DELFIN LA, RUBIN-DE-CELIS VE, ZAGO MA 2001 *Genetic Diversity in an Andean Population from Peru and Regional Migration Patterns of Amerindians in South America: Data from Y Chromosome and Mitochondrial DNA* Human Heredity 51:97-106
- ROGERS AR, HARPENDING H. 1992. *Population growth make waves in the distribution of pairwise genetic differences*. 67: 1-36. Molecular Biology and Evolution
- ROCCO P, MORALES CG, MORAGA MV, MIQUEL JF, NERVI FO, LLOP ER, CARVALLO PS, ROTHHAMMER F. 2002 *Composición genética de la población chilena. Distribución de polimorfismos de DNA mitocondrial en grupos originarios y en la población mixta de Santiago*. Revista Médica de Chile v.130 n.2
- ROSSER ZH, ZERJAL T, HURLES ME, ADOJAAN M, ALAVANTIC D, AMORIM A, AMOS W, ARMENTEROS M, ARROYO E, BARBUJANI G, BECKMAN G, BECKMAN L, BERTRANPETIT J, BOSCH E y colaboradores. 2000. *Y-Chromosomal Diversity in Europe Is Clinal and Influenced Primarily by Geography, Rather than by Language* American Journal of Human Genetics 67:1526-1543
- ROUSSET F. 1997. *Genetic Differentiation and Estimation of Gene Flow from Fstatistics Under Isolation by Distance* Genetics 145 1219-1228
- SAIKI RK, SCHARF S, FALOONA F, MULLIS KB, HORN GT, ERLICH HA, ARNHEIM N. 1985. *Enzymatic Amplification of β Globin Genomic Sequences and Restriction Site Analysis for diagnosis of Sick Cell Anemia* Science. Volumen. 230. no. 4732
- SALCEDA SA, MENDEZ MG, TOBISCH AC. 1998. *Tras las huellas de Juan Chalimín: caracterización dermatoglífica y filiación genética de la población actual de Azampay y parajes aledaños (Dto. Belén, Catamarca, Argentina)*. Kallaway, N.S.Nº5: 19-35, Salta, Argentina.
- SANCHEZ-ALBORNOZ N. 1990. *La población de la América colonial española*. En *Historia de América Latina*. Bethell L (Editor) Cambridge University Press. Editorial Crítica
- SANTOS R, RAMALLO V, POLETTA F LÓPEZ-CAMELO JS, ORIOLI I, CASTILLA F, BAILLIET G. 2008 *Análisis de linajes uniparentales en familias de niños con labio leporino* Actas del X Congreso de la Asociación Latinoamericana de Antropología Biológica. La Plata, Buenos Aires
- SEIELSTAD M, BEKELE E, IBRAHIM M, TOURE A, TRAORE M 1999 *A View of Modern Human Origins from Y Chromosome Microsatellite Variation* Genome 9:558-567.
- SEIELSTAD M, YULDASHEVA N, SINGH N, UNDERHILL P, OEFNER P, SHEN P, WELLS RS 2003. *A Novel Y-Chromosome Variant Puts an Upper Limit on the Timing of First Entry into the Americas* American Journal of Human Genetics. 73:000
- SEMINO O, PASSARINO G, OEFNER PJ, LIN AA, ARBUZOVA S, BECKMAN LE, DE BENEDICTIS G, FRANCALACCI P, KOUVATSI A, LIMBORSKA S, MARCIKI M, MIKA A, MIKA B, PRIMORAC D,

- SANTACHIARA-BENERECETTI AS, CAVALLI-SFORZA L, UNDERHILL PA 2000 *The Genetic Legacy of Paleolithic Homo sapiens sapiens in Extant Europeans: A Y Chromosome Perspective* Science, Vol 290
- SEMPÉ C, SALCEDA S, MAFFIA M (EDIT) 2005. *Azampay, presente y pasado de un pueblito catamarqueño. Antología de estudios antropológicos*. Ediciones Al Margen. La Plata. Primera edición.
- SEMPÉ C, SALCEDA S, MÉNDEZ G. 2000. *Paleodemografía en el cementerio Aguada Orilla Norte*. Actas de la IV Mesa Redonda sobre la Cultura Aguada y su Dispersión. San Pedro de Atacama. Chile
- SLATKIN M 1995. *A measure of population subdivision based on microsatellite frequencies*. Genetics 139, 457-462.
- SOKAL R, MICHENER CD. 1958. *A statistical method for evaluating systematic relationships*. University of Kansas Science Bulletin 38, 1409-1438
- STONEKING M, SHERRY S, VIGILANT L. 1992. *Geographic origin of human mtDNA revisited*. Systematic Biologists 41:384-391.
- SYKES B, IRVEN C. 2000. *Surnames and the Y chromosome*. American Journal of Human Genetics. 66:1417-1419.
- TAMM E, KIVISILD T, REIDLA M, METSPALU M, GLENN SMITH D, MULLIGAN CJ, BRAVI CM, RICKARDS O, MARTINEZ-LABARGA C, KHUSNUTDINOVA EK, FEDOROVA SA, GOLUBENKO MA, STEPANOV VA, GUBINA MA, ZHADANOV SI, OSSIPOVA LP, DAMBA L, VOEVODA MI, DIPIERRI JE, VILLEMS R, MALHI RS 2007 *Beringian Standstill and Spread of Native American Founders* PLoS ONE 2(9): e829. doi:10.1371/journal.pone.0000829
- TARAZONA-SANTOS E, CARVALHO-SILVA DR, PETTENER D, LUISELLI D, DE STEFANO GF, MARTINEZ LABARGA C, RICKARDS O, TYLER-SMITH C, PENAS SDJ, SANTOS F. 2001. *Genetic Differentiation in South Amerindians Is Related to Environmental and Cultural Diversity: Evidence from the Y Chromosome*. Journal of Human Genetic. 68: 1485-1496
- TOBISCH A, SALCEDA SA 1998 *Tras las huellas de Juan Chalimin: caracterización dermatoglífica y filiación genética de la población actual de Azampay y parajes aledaños*. Kallaway 5:19-35
- TOFANELLI S, FERRI G, BULAYEVA K, CACIAGLI L, ONOFRI V, TAGLIOLI L, BULAYEV O, BOSCHI I, ALU M, BERTI A, RAPONE C, BEDUSCHI G, LUISELLI D, CADENAS AM, AWADDEKARIM KD, MARIANI-COSTANTINI R, ELWALI NE, VERGINELLI F, PILLI E, HERRERA RJ, GUSMAO L, PAOLI G, CAPELLI C 2009 *J1-M267 Y lineage marks climate-driven pre-historical human displacements* European Journal of Human Genetics, 1 – 5
- TORRONI A, SCHURR TG, CABELL MF, BROWN MD, NEEL JV, LARSEN M, SMITH DG, VULLO CM, WALLACE DC 1993 *Asian affinities and continental radiation of the four founding Native American mtDNAs*. American Journal of Human Genetics 53:563–590
- TORRONI A, SUKERNIK RI, SCHURR TG, STARIKORSKAYA YB, CABELL MF Y COL 1993 *mtDNA variation of aboriginal Siberians reveals distinct genetics affinities with Native Americans*. American Journal of Human Genetics, 53:591-608
- TRETTEL DE VARELA N, VIAN MA, BAZÁN DE BLAS MI, ALVAREZ SB, GERSANIS OVIEDO MA. 1998 *Lazos y permanencia: estrategias conyugales de tres grupos extranjeros en dos departamentos catamarqueños (1890-1940)* Actas del Congreso de Desarrollo Regional. Tomo II. Universidad Nacional de Catamarca. Secretaría de Ciencia y Tecnología
- UNDERHILL PA, JIN L, ZEMANS R, OEFNER PJ, CAVALLI-SFORZA LL 1996 *A pre-Columbian Y chromosome-specific transition and its implications for human evolutionary history*. Proceedings of the National Academy of Sciences 93:196–200
- UNDERHILL PA, JIN L, LIN AA, MEHDI SQ, JENKINS T, VOLLRATH D, DAVIS RW 1997 *Detection of numerous Y chromosome biallelic polymorphisms by denaturing high-performance liquid chromatography*. Genome Research 7:996–1005

- UNDERHILL PA, PASSARINO G, LIN AA, SHEN P, MIRAZON LAHR M, FOLEY RA, OEFNER PJ, CAVALLI-SFORZA LL. 2001. *The phylogeography of Y chromosome binary haplotypes and the origins of modern human populations*. Annals of Human Genetic 65: 43–62.
- UNDERHILL PA. 2004. *A synopsis of extant Y chromosome diversity in East Asia and Oceania*. En *The peopling of East Asia: putting together archaeology, linguistics and genetics* Sagart L, Blench R, Sanchez-Mazas A (editores). Editorial Routledge Curzon, Londres.
- UNDERHILL PA, KIVISILD T. 2007. *Use of Y Chromosome and Mitochondrial DNA Population Structure in Tracing Human Migrations*. Annual Reviews Genetics. 41:539-64
- WANG S, RAY N, ROJAS W, PARRA MV, BEDOYA G, GALLO C, POLETTI G, MAZZOTTI G, HILL K, HURTADO AM, CAMRENA B, NICOLINI H, KLITZ W, BARRANTES R, MOLINA JA, FREIMER NB, BORTOLINI MC, SALZANO FM, PETZL-ERLER ML, TSUNETO LT, DIPIERRI JE, ALFARO EL, BAILLIET G, BIANCHI NO, LLOP E, ROTHHAMMER F, EXCOFFIER L, RUIZ-LINARES A 2008. *Geographic Patterns of Genome Admixture in Latin American Mestizos* PLoS Genet 4(3)
- WATSON JD, BAKER T, BELL SP, GANN A, LEVINE M, LOSICK R. 2004 *Molecular Biology of the Gene*, Pearson Education, Estados Unidos. Quinta edición
- WELLS RS, YULDASHEVA N, RUZIBAKIEV R, UNDERHILL PA, EVSEEVA I, BLUE-SMITH J, JIN L, SU B, PITCHAPPAN R, SHANMUGALAKSHMI S, BALAKRISHNAN K, READH M, PEARSON N, ZERJAL T, WEBSTER MT, ZHOLOSHVILI I, JAMARJASHVILI E, GAMBAROV S, NIKBIN B, DOSTIEV A, AKNAZAROV O, ZALLOUA P, TSOY I, KITAEV M, MIRRAKHIMOV M, CHARIEV A, BODMER WF. 2001. *The Eurasian Heartland: A continental perspective on Y-chromosome diversity* Proceedings of the National Academy of Sciences vol. 98 10244–10249
- Y CHROMOSOME CONSORTIUM 2002. *A nomenclature system for the tree of human Y-chromosomal binary haplogroups*. Genome Research. 12, 339–348
- ZEI G, LISA A, FIORANI O, MAGRI C, QUINTANA-MURCI L, SEMINO O, SANTACHIARA-BENERECETTI AS. 2003. *From surnames to the history of Y chromosomes: the Sardinian population as a paradigm* European Journal of Human Genetics 11, 802–807
- ZERJAL T, DASHNYAM B, PANDYA A, KAYSER M, ROEWER L, SANTOS FR, SCHIEFENHÖVEL W, FRETWELL N, JOBLING MA, HARIHARA S, SHIMIZU K, SEMJIDMAA D, SAJANTILA A, SALO P, CRAWFORD MH, GINTER EK, EVGRAFOV OV, TYLER-SMITH C. 1997 *Genetic relationships of Asians and Northern Europeans, revealed by Y-chromosomal DNA analysis*. American Journal of Human Genetics 60 (5):1174-83
- ZUBRZYCKI B. 2002. *Campos comuneros en el valle de Hualfín (Catamarca) Antecedentes, problemática y situación actual*. Andes, número 13. Universidad Nacional de Salta. ISSN 0327-1676
- ZUBRZYCKI B. 2008. *Campos comuneros y relaciones de parentesco en el Distrito La Ciénaga (Belén Catamarca)*. Tesis de doctorado. Universidad Nacional de La Plata
- ZUBRZYCKI B. 2003 *Herederos, dueños y "Derechosos": Propiedad y herencia de la tierra en Asampay, Argentina*. Sociedades Rurales, Producción y Medio Ambiente. Volumen 4 número 6. Universidad Autónoma Metropolitana. México.

Anexos

TABLA 1: Tasas Mutacionales y pesos relativos por microsatélite (Muzzio, 2008, *inédito*)

STR	N. de meiosis	N. de mutaciones	Tasa mutacional ($\times 10^{-3}$)	Años por mutación	Peso relativo estimado
DYS 19	9390*	23*	2.45 (1.55-3.67 95% CI)*	408	4
DYS 389 I	7594*	18*	2.37 (1.41-3.74 95% CI)*	422	4
DYS 389 II	7581*	26*	3.43 (2.24-5.02 95% CI)*	292	3
DYS 390	8872*	21*	2.37 (1.47-3.62 95% CI)*	422	4
DYS 391	8821*	25*	2.83 (1.83-4.18 95% CI)*	353	3
DYS 392	8785*	4*	0.45 (0.12-1.17 95% CI)*	2222	10
DYS 393	7574*	6*	0.79 (0.29-1.72 95% CI)*	1266	7

*Fuente: YHRD database

TABLA 2: Frecuencias alélicas por población

	AZAMPAY	CATAMARCA	SALTA	TUCUMAN	JUJUY
DYS 19					
12		0.05	0.09		0.03
13	0.04	0.13	0.46	0.25	0.63
14	0.64	0.62	0.17	0.50	0.28
15	0.22	0.11	0.20		0.05
16	0.04	0.05	0.07	0.25	
17	0.04	0.01			
DYS 389 I					
12	0.22	0.13	0.20	0.25	0.03
13	0.53	0.62	0.58	0.75	0.59
14	0.24	0.23	0.22		0.38
DYS 389 II					
27		0.05			
28	0.08	0.37	0.31		0.03
29	0.24	0.22	0.44	0.25	0.09
30	0.42	0.22	0.12	0.50	0.33
31	0.13	0.06	0.09		0.43
32	0.11	0.06	0.02		0.11
33				0.25	
DYS 390					
21	0.02	0.08	0.02	0.25	0.03
22	0.02	0.11	0.07	0.25	0.03
23	0.24	0.22	0.27	0.25	0.23
24	0.68	0.45	0.51		0.41
25	0.02	0.11	0.12	0.25	0.16
DYS 391					
9		0.13	0.10		0.03
10	0.26	0.36	0.56	0.75	0.58
11	0.66	0.47	0.32		0.32
12	0.04	0.02	0.02	0.25	0.05
13	0.02	0.02			0.02
DYS 392					
9		0.04	0.24		

10	0.02	0.02		0.50	0.02
11	0.08	0.25	0.32	0.25	0.02
12	0.24	0.20			0.02
13	0.40	0.37	0.22		0.25
14	0.22	0.08	0.34	0.25	0.46
15	0.02	0.03	0.07		0.11
16			0.02		0.11
DYS 393					
12	0.06	0.08	0.12	0.25	0.06
13	0.77	0.73	0.66	0.50	0.65
14	0.13	0.08	0.22	0.25	0.29
15	0.02	0.03			
16		0.05			
18		0.02			

TEXTO 1: Formulario de consentimiento informado y Cartilla de Información al Donante utilizados en la toma de muestras (aprobado por el Comité de Bioética del IMBICE)

FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO SOBRE LA TOMA DE MUESTRA, INVESTIGACIÓN Y ALMACENAMIENTO DEL MATERIAL GENÉTICO.

Mediante la firma de este documento, autorizo a que la muestra de saliva donada por mí sea utilizada en el Laboratorio de Genética Molecular Poblacional del Instituto Multidisciplinario de Biología Celular (IMBICE) para formar un banco de material biológico representativo de la población de Azampay, Catamarca, en el marco del proyecto "*Caracterización del Perfil Genético de la Población Actual de Asampay, Catamarca*". Los resultados serán divulgados a nivel poblacional, NO será proporcionado el nombre de ningún participante bajo ninguna circunstancia. Los donantes podrán solicitar los resultados referentes a su persona cuando lo crean necesario. Los datos personales estarán bajo la responsabilidad de la Dra. Susana Salceda, responsable por la ejecución del proyecto.

Término de consentimiento

Yo, he leído la hoja de información que se me ha entregado, he recibido información y no teniendo ninguna duda sobre la Cartilla de Explicación precedente comprendo que:

-Mi participación es voluntaria y limitada exclusivamente a los estudios especificados en la Hoja de Información previa

-Puedo retirarme del estudio 1) Cuando quiera 2) Sin tener que dar explicaciones 3) Proveerme los datos obtenidos si así lo requiero

Presto entonces libremente mi conformidad para participar en el estudio y autorizo a que me tomen muestras de saliva.

.....
Firma del donante

.....
DNI

.....
Nombre y Firma del investigador responsable

.....
DNI

.....
Nombre y Firma de testigo

.....
DNI

Lugar y fecha

CARTILLA DE EXPLICACIÓN SOBRE LA TOMA DE MUESTRA, INVESTIGACIÓN Y ALMACENAMIENTO DEL MATERIAL GENÉTICO.

La doctora Susana Salceda, investigadora de la Cátedra de Métodos en la Investigación Antropobiológica de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo de la Universidad Nacional de La Plata, la doctora Graciela Bailliet y la licenciada Virginia Ramallo, del Instituto Multidisciplinario de Biología Celular (IMBICE) lo invitan a Usted a participar en el proyecto **“Caracterización del Perfil Genético de la Población Actual de Azampay, Catamarca”**.

Cada uno de nosotros lleva en sus células, desde el nacimiento, una parte que hereda de la madre y otra del padre. Gracias a los avances en genética molecular, se han desarrollado estudios con marcadores genéticos en regiones del ADN mitocondrial y del cromosoma Y, que permiten reconstruir tanto la línea genealógica materna (matrilinaje) como la paterna (patrilinaje). Comparando con datos en el resto del mundo, es posible identificar el origen geográfico de nuestros antepasados. Este tipo de estudios permiten reconstruir las historias familiares y comunales, así como los patrones de migración y asentamiento a lo largo del tiempo.

El trabajo consiste en el registro de datos genealógicos y la toma de muestras de saliva para la extracción de ADN (Acido Desoxirribonucleico), ya que en la saliva de cada persona encontramos material genético. Nuestro interés es, a partir de estos datos, reconstruir parte de la historia de Azampay. Lo/a invitamos a participar en esta investigación como donante de saliva, sin ningún riesgo para su salud ni costo económico alguno.

Las muestras sólo serán destinadas a este estudio y almacenadas a tal fin en el banco de ADN del Instituto Multidisciplinario de Biología Celular (IMBICE). La identidad de los donantes nunca será revelada, las muestras se identificarán con un código para preservar el anonimato y sólo personas autorizadas (Dras. Salceda, Bailliet y lic. Ramallo) del equipo tendrán acceso a los resultados.

Usted puede retirarse de este estudio: 1) cuando quiera; 2) sin tener que dar explicaciones. En caso que lo solicite, podemos comunicarle los resultados sin costo alguno. Su participación es voluntaria y limitada en forma exclusiva a los estudios detallados previamente.

Si desea participar, por favor firme el Término de Consentimiento Informado, después de leerlo detenidamente y aclarar todas sus dudas con la persona que la/o está atendiendo.

Para obtener cualquier información, evacuar cualquier duda o solicitar su exclusión del proyecto como donante, por favor, comuníquese con:

Doctora Susana Salceda
DNI 5256096
Laboratorio de Antropología Biológica
Museo de Ciencias Naturales de La Plata
Paseo del Bosque s/n – CP 1900
Teléfono: 0221 – 4257744

ssalceda@fcnym.unlp.edu.ar